

# Xpert<sup>®</sup> NPM1 Mutation

**REF** GXNPM1-CE-10

Инструкции за употреба

**IVD** CE

## **Търговска марка, патенти и авторско право**

### **Trademark, Patents, and Copyright Statements**

Cepheid<sup>®</sup>, the Cepheid logo, GeneXpert<sup>®</sup>, and Xpert<sup>®</sup> are trademarks of Cepheid, registered in the U.S. and other countries. All other trademarks are the property of their respective owners.

THE PURCHASE OF THIS PRODUCT CONVEYS TO THE BUYER THE NON-TRANSFERABLE RIGHT TO USE IT IN ACCORDANCE WITH THESE INSTRUCTIONS FOR USE. NO OTHER RIGHTS ARE CONVEYED EXPRESSLY, BY IMPLICATION OR BY ESTOPPEL. FURTHERMORE, NO RIGHTS FOR RESALE ARE CONFERRED WITH THE PURCHASE OF THIS PRODUCT.

© 2022–2023 Cepheid.

See Section 28, Revision History for a description of changes.

Cepheid<sup>®</sup>, логото на Cepheid, GeneXpert<sup>®</sup> и Xpert<sup>®</sup> са търговски марки на Cepheid, регистрирани в САЩ и други държави.

Всички други търговски марки са притежание на техните съответни собственици.

ПОКУПКАТА НА ТОЗИ ПРОДУКТ ПРЕДОСТАВЯ НА КУПУВАЧА НЕПРЕХВЪРЛЯЕМОТО ПРАВО ДА ГО ИЗПОЛЗВА В СЪОТВЕТСТВИЕ С ТЕЗИ ИНСТРУКЦИИ ЗА УПОТРЕБА. НЕ СЕ ПРЕДОСТАВЯТ НИКАКВИ ДРУГИ ПРАВА - ИЗРИЧНИ, ПО ПОДРАЗБИРАНЕ ИЛИ ПО ESTOPPEL. ОСВЕН ТОВА С ПОКУПКАТА НА ТОЗИ ПРОДУКТ НЕ СЕ ПРЕОТСТЪПВАТ НИКАКВИ ПРАВА ЗА ПРЕПРОДАЖБА.

© 2022–2023 Cepheid.

Вижте Раздел 28, История на ревизиите за описание на промените.

# Хpert® NPM1 Mutation

---

За употреба при *in vitro* диагностика.

## 1 Фирмено наименование

Хpert® NPM1 Mutation

## 2 Често или обичайно наименование

Хpert NPM1 Mutation

## 3 Предвидена цел

### 3.1 Предвидена употреба

Тестът Хpert NPM1 Mutation, извършен върху GeneХpert® Dx System на Cepheid, е *in vitro* диагностичен тест за количествено определяне на мутантни за NPM1 иРНК транскрипти (типове А, В и D в екзон 12) в проби от периферна кръв от пациенти с остра миелоидна левкемия (AML). Тестът използва автоматизирана полимеразна верижна реакция с обратна транскрипция в реално време (RT-PCR) и отчита процентното съотношение на мутантните за NPM1 към ABL1 ендогенни контролни иРНК транскрипти. Тестът е предназначен като помагало при наблюдение на пациенти с AML с мутирал ген NPM1 за нивото на мутантния за NPM1 иРНК транскрипт. Тестът трябва да се използва заедно с други клинично-патологични фактори.

Тестът Хpert NPM1 Mutation не прави разлика между мутантни за NPM1 транскрипти от тип А, В или D и не открива или наблюдава други редки видове мутантни NPM1. Този тест не е предназначен за диагностициране на AML.

### 3.2 Предвиден потребител/Среда

Тестът Хpert NPM1 Mutation е предвиден за употреба от обучени потребители в лабораторна среда.

## 4 Обобщение и обяснение

Острата миелоидна левкемия (AML) е рак на миелоидните кръвни хематопоеични стволови клетки в костния мозък<sup>12</sup> и е известно, че има различни мутации на екзон 12 на нуклеофосмин (NPM1)<sup>3</sup>. Вмъкването на нуклеотиди в екзон 12 води до мутация с изместване на рамката и създава ядрен експортен сигнал (NES). Мутациите в гена NPM1 водят до аберантна цитоплазмена локализация на NPM1 и NPM1-взаимодействащи протеини. NPM1 е един от най-мутиралите гени при AML и мутациите се срещат в 28% до 35% от всички случаи на AML. Макар в момента да се изследват няколко лекарства, насочени към мутирал NPM1, към момента няма одобрени от FDA целеви терапии.<sup>4</sup>

Генът NPM1 кодира ядрения совалков протеин, който има роля в центрозомната и рибозомната биология, както и в регулирането на други клетъчни системи, включително туморни супресорни пътища. NPM1 е нуклеоларен фосфопротеин, който служи като совалка между ядрото и цитоплазмата. Той регулира транспорта на рибозомни частици през ядрената мембрана. Мутациите на NPM1 са открити за първи път при индивиди с AML след наблюдение на аномално цитоплазмено местоположение, а не на нормалното ядрено местоположение. Генетичната оценка на левкемични бласти, комбинирана с цитоплазменото местоположение на NPM1, доведе до познаването на известните мутации при изместване на екзон 12.<sup>3</sup> Най-честите мутации на NPM1 са тип А (~75 – 80%), тип В

(~10%) и тип D (~5%), всички в екзон 12, което води до мутация с изместване на рамката от вмъкване на четири нуклеотида. Мутацията причинява загуба на сигнал за нуклеоларна локализация и аберантна цитоплазмна локализация на протеина при пациенти с AML.<sup>5</sup>

## 5 Принцип на процедурата

Тестът Xpert NPM1 Mutation е автоматизиран анализ за количествено определяне на количеството транскрипти на мутация на NPM1 като съотношение на мутация на NPM1/ABL1. Тестът се извършва на Cepheid GeneXpert Dx System, която автоматизира и интегрира пречистването на пробата, амплификацията на нуклеинова киселина и откриването на целева секвенция в елементарни или комплексни проби с помощта на RT-PCR в реално време и анализи на вместена PCR. Системата се състои от инструмент, компютър и предварително зареден софтуер за провеждане на анализи и разглеждане на резултати. Системата изисква употребата на касети за еднократна употреба GeneXpert, в които се държат реагентите за RT-PCR и вместената PCR и се извършват процесите на RT-PCR и вместената PCR. За пълно описание на системата направете справка в съответното *GeneXpert Dx System Operator Manual*.

Тестът Xpert NPM1 Mutation включва реагенти за откриване на транскрипт на мутация на NPM1 и ABL1 като ендогенна контрола в проби от периферна кръв. Количеството на транскрипта на мутация на NPM1 се определя количествено като процентно съотношение на мутацията на NPM1/ABL1. В теста Xpert NPM1 Mutation са включени две контроли – ендогенна контрола (ABL1) и контрола за проверка на сондите (PCC). Ендогенната контрола ABL1 нормализира целта за мутация на NPM1 и гарантира, че в анализа се използва достатъчно проба. PCC проверява рехидратацията на реагента, пълненето на PCR епруветката и дали всички реакционни компоненти, включително сонди и багрила, присъстват и функционират в касетата.

## 6 Реагенти и инструменти

### 6.1 Доставени материали

Комплектът Xpert NPM1 Mutation (GXNPM1-CE-10) съдържа достатъчно реагенти за обработка на 10 проби за анализ или проби за контрол на качеството. Комплектът съдържа следното:

**Реагенти Xpert NPM1 Mutation** **10 от всеки на комплект**

<b>Протеиназа К (ПК)</b>	<b>10 x 130 µl на флакон</b>
<b>Компонент</b>	<b>Реактивна съставка</b>
Протеиназа К	< 5%

<b>Лизисен реагент (LY) (гуанидиниев хлорид)</b>	<b>10 x 5,3 ml на флакон</b>
<b>Компонент</b>	<b>Реактивна съставка</b>
Гуанидин хлорид	25 – 50%
Урея	25 – 50%
Натриев додецил сулфат	< 2%

<b>Реагент за отмиване</b>	<b>10 x 2,9 ml на ампула</b>
<b>Компонент</b>	<b>Реактивна съставка</b>
Етанол	< 50%
Гуанидин тиоцианат	< 50%

Хpert NPM1 Mutation Касети с включени реакционни епруветки		10 на комплект
Компонент	Реактивна съставка	Количество
Микросфера 1 (изсушена чрез замразяване)	Ензим: Таq ДНК полимераза < 50 U/ микросфера	1 на касета
	dNTPs < 0,05%	
Микросфера 2 (изсушена чрез замразяване)	Праимери и сонди < 0,005%	1 на касета
Микросфера 3 (изсушена чрез замразяване)	Праимери и сонди < 0,005%	1 на касета
Микросфера 4 (изсушена чрез замразяване)	Ензим: Таq ДНК полимераза < 50 U/ микросфера	1 на касета
	dNTPs < 0,05%	
Реагент за изплакване	Калиев хлорид < 4%	2 ml на касета
	Натриев азид < 0,1%	
	Полиетилен гликол < 40%	
	Tween 20 < 0,2%	
Елуционен реагент	Trizma основа < 0,3%	2,5 ml на касета
	Trizma хидрохлорид < 0,1%	
	Натриев азид < 0,05%	

**CD****1 на комплект**

- Файл за дефиниране на анализа (ADF)
- Инструкция за импортиране на ADF в софтуера GeneХpert
- Инструкции за употреба (ИзУ)

**Забележка**

Говеждият серумен албумин (bovine serum albumin, BSA) в микросферите в този продукт е произведен и изработен специално от говежда плазма с източник в Съединените Щати. На животните не е даван протеин от преживни животни или друг животински протеин; животните са изследвани преди и след смъртта им. По време на обработката не е имало смесване на материала с други животински материали.

**Забележка**

Сертификатите за анализа и спецификациите на партидата са достъпни чрез отдела за техническа поддръжка на Cepheid.

## 7 Необходими, но недоставени материали

- GeneХpert Dx System (каталожният номер варира според конфигурацията): инструмент GeneХpert, компютър, скенер за баркод и ръководство за оператора.
- За GeneХpert Dx System: софтуер GeneХpert Dx версия 6.2 или по-нова.
- Принтер: Ако е необходим принтер, свържете се с отдела за техническа поддръжка на Cepheid, за да уредите закупуване на препоръчван принтер.
- Вортекс миксер
- Микроцентрофуга (1000 x g минимум)
- Пипети и върхове на пипети с аерозолен филтър
- Конусни епруветки 50 ml
- Абсолютен етанол от клас за реагент
- 1X PBS, pH 7,4

## 8 Съхранение и работа

- Съхранявайте съдържанието на комплекта Xpert NPM1 Mutation при 2°C до 8°C до срока на годност, посочен на етикета.
- Не отваряйте капака на касетата докато не сте готови да извършите теста.
- Не използвайте касети, които са с изтекъл срок на годност.
- Не използвайте касета, която е протекла.
- Реагентът за измиване е бистра, безцветна течност. Не използвайте реагента за измиване, ако е станал мътен или с променен цвят.
- Двадесет (20) минути преди да започнете процедурата, извадете кръвната проба, касетата и реагентите за подготовка на пробата от хладилника, за да им позволите да достигнат стайна температура (20°C до 30°C).

## 9 Предупреждения и предпазни мерки

### 9.1 Общо

- За употреба при *in vitro* диагностика.
- Третирайте всички биологични проби, включително използваните касети и реагенти, като способни да предават инфекциозни агенти. Тъй като често е невъзможно да се знае коя би могла да е инфекциозна, всички биологични проби трябва да се третират със стандартните предпазни мерки.
- Насоки за боравене с проби са на разположение от Центровете за контрол и превенция на заболяванията в САЩ<sup>6</sup> и Института за клинични и лабораторни стандарти.<sup>7</sup>
- Спазвайте процедурите за безопасност, установени от Вашата институция, за работа с химикали и боравене с биологични проби.
- Работните характеристики на този тест са установени само с кръв, събрана в епруветки с EDTA. Функцията на анализа не е оценена с други типове проби.
- Надеждните резултати зависят от адекватното вземане, транспорт, съхранение и обработка на пробите. Грешни резултати от анализа може да се появят от неправилно вземане, боравене или съхранение на пробите, техническа грешка, объркване на пробите или защото целевият транскрипт в пробата е под границата на откриване на анализа. Внимателното придържане към тази инструкция за употреба и *GeneXpert Dx System Operator Manual* е необходимо за избягване на грешни резултати.
- Извършването на теста Xpert NPM1 Mutation извън препоръчителните диапазони на комплекта и пробата за температура на съхранение и време може да доведе до грешни или невалидни резултати.
- Биологичните проби, изделията за прехвърлянето им и използваните касети трябва да се разглеждат като способни да пренасят инфекциозни агенти, изискващи стандартни предпазни мерки. Спазвайте процедурите за отпадците във вашата институция за подходящо изхвърляне на използвани патрони и неизползвани реагенти с цел опазване на околната среда. Тези материали могат да проявят характеристики на химически опасни отпадъци, които изискват специфични национални или регионални процедури на изхвърляне. Ако националните или регионалните регламенти не дават ясно указание за правилно изхвърляне, биологичните проби и използваните касети трябва да се изхвърлят съгласно насоките за боравене със и изхвърляне на медицински отпадък на СЗО [Световната здравна организация].<sup>8</sup>

### 9.2 Спесимен

- Поддържайте подходящи условия за съхранение, за да гарантирате целостта на пробата (вижте Раздел 11, Събиране и съхранение на спесимени). Стабилността на спесимените при условия на транспорт, различни от препоръчаните, не е оценявана.
- Не замразявайте EDTA спесимен от периферна кръв.
- За правилни резултати от основна важност са правилното вземане, съхранение и транспорт на спесимените.

### 9.3 Тест/реагент


- Не замествайте реагенти Xpert NPM1 Mutation с други реагенти.
- Не отваряйте капака на касетата Xpert NPM1 Mutation, освен когато добавяте проба и реагент за измиване.
- Не използвайте касета, която е била изпусната след изваждането ѝ от опаковката.

- Не разклащайте касетата. Разклащането или изпускането на касетата след отваряне на капака на касетата може да доведе до невалидни резултати.
- Не поставяйте етикета с идентификатора на пробата върху капака на касетата или върху етикета с баркод на касетата.
- Не използвайте касета с повреден етикет с баркод.
- Не използвайте касета с повредена реакционна епруветка.
- Препоръчително е касетите Хpert NPM1 Mutation да са на стайна температура (20°C до 30°C), когато се използват за тестване.
- Всяка касета Хpert NPM1 Mutation за еднократна употреба се използва за обработка на един анализ. Не използвайте повторно обработени касети.
- Прехвърлете цялото съдържание на една (1) ампула реагент за измиване в камерата за реагент за измиване. Липсата на добавяне на реагент за измиване може да доведе до фалшив резултат **НЕ Е ОТКРИТА (NOT DETECTED)**.
- Не използвайте отново върховете на пипетата.
- Не използвайте касета, ако изглежда мокра или се вижда, че уплътнението на капака е счупено.
- Не използвайте касетата Хpert NPM1 Mutation, ако реагент е добавен в грешен отвор.
- Не отваряйте касетите Хpert NPM1 Mutation след приключване на анализа.
- Посветете набор от пипети и реагенти изключително за подготовка на пробата.
- Носете чисто лабораторно облекло и ръкавици. Сменяйте ръкавиците между манипулациите с всяка проба.
- В случай на разливане на проби или контроли сложете ръкавици и поийте разлятото с хартиени кърпи. След това щателно почистете замърсената повърхност с прясно приготвен разтвор на хлорна белина за домакински нужди в съотношение 1:10. Окончателната активна хлорна концентрация трябва да е 0,5% без значение концентрацията на хлорна белина за домакински нужди във Вашата страна. Оставете поне две минути време за контакт.
- Уверете се, че работната зона е суха преди да използвате 70% денатуриран етанол, за да отстраните остатъчната белина. Оставете повърхността да изсъхне напълно, преди да продължите. Алтернативно следвайте стандартните процедури на Вашата институция за замърсяване или разлив. За оборудването следвайте препоръките на производителя за обеззаравяване.

## 10 Химически опасности

### Забележка

Информацията по-долу се отнася за целия продукт, съдържащ протеиназа К, лизис, реагенти за измиване и изплакване.

- Пиктограма за риска съгласно Регламента относно класифицирането, етикетирането и опаковането (CLP)/ Глобалната хармонизирана система (GHS): 
- Сигнална дума: ОПАСНОСТ
- **Фрази за риск на Глобалната хармонизирана система (GHS) на ООН**
  - Силно запалими течност и пари H225.
  - Предизвиква дразнене на кожата H315.
  - Предизвиква сериозно дразнене на очите H319.
  - Може да предизвика сънливост или световъртеж H336.
  - Предполага се, че причинява генетични дефекти H341.
- **Фрази за предпазни мерки на Глобалната хармонизирана система (GHS) на ООН**
  - **Превенция**
    - Вижте информационния лист за безопасност за специални инструкции преди употреба.
    - Преди употреба се снабдете със специални инструкции.
    - Не използвайте преди да сте прочели и разбрали всички предпазни мерки за безопасност.
    - Да се пази от топлина, искри, открит пламък и/или нагорещени повърхности. Тютюнопушенето е забранено.
    - Съдът да се съхранява плътно затворен.
    - Избягвайте вдишване на аерозол/пари/спрей.
    - Да се измие старателно след употреба.

- Да се използва само на открито или на добре проветриво място.
- Използвайте предпазни ръкавици/предпазно облекло/предпазни очила/предпазна маска за лице.
- Използвайте предписаните лични предпазни средства.
- **Отговор**
  - При ПОЖАР: Използвайте подходящи средства за гасене.
  - ПРИ ВДИШВАНЕ: Изведете пострадалия на чист въздух и го поставете в позиция, улесняваща дишането.
  - При неразположение се обадете в ЦЕНТЪР ПО ТОКСИКОЛОГИЯ или на лекар.
  - ПРИ КОНТАКТ С КОЖАТА (или косата): Незабавно свалете цялото замърсено облекло. Облейте кожата с вода/вземете душ.
  - Специализирано лечение (вж. допълнителната информация за първа помощ).
  - Свалете замърсеното облекло и го изперете преди повторна употреба.
  - При поява на кожно дразнене: Потърсете медицински съвет/помощ.
  - ПРИ КОНТАКТ С ОЧИТЕ: Промивайте внимателно с вода в продължение на няколко минути. Махнете контактните лещи, ако има такива, и ако е лесно да го направите. Продължете да изплаквате.
  - При продължително дразнене на очите: Потърсете медицински съвет/помощ.
  - При явна или предполагаема експозиция: Потърсете медицински съвет/помощ.
- **Съхранение/изхвърляне**
  - Да се държи на хладно.
  - Да се съхранява на добре проветриво място.
  - Съдът да се съхранява плътно затворен.
  - Да се съхранява под ключ.
  - Изхвърляйте съдържанието и/или контейнера в съответствие с местните, регионалните, националните и/или международните разпоредби.

## 11 Взимане и съхранение на спесимени

- Спесимените от периферна кръв трябва да се вземат в епруветки с EDTA, като се спазват указанията на Вашата институция. Плазмата не трябва да се отделя от клетките.
- Спесимените трябва да се съхраняват при 2°C до 8°C за не повече от 3 дни (72 часа) преди тестването.
- Правилното събиране и съхранение на спесимените са от решаващо значение за функцията на анализа. Стабилността на спесимените при условия на съхранение, различни от изброените в Раздел 12, Процедура по-долу, не е оценена с теста Xpert NPM1 Mutation.

## 12 Процедура

### 12.1 Преди да започнете

Двадесет (20) минути преди да започнете процедурата, извадете кръвната проба, реагентите за приготвяне на пробата и касетите от хладилника, за да им позволите да достигнат стайна температура. Завъртете надолу за кратко протеиназата К (ПК) в микроцентрифуга.

---

**Важно** Започнете анализа в рамките на 1 час след добавяне на пробата, обработена с реагент за проба, към касетата.

---

**Важно** Извадете касетата от картонената опаковка, преди да подготвите пробата. (Вижте Раздел 12.3, Подготовка на касетата).

---



## 12.2 Подготовка на пробата

### 12.2.1 Подготовка на пробата с неизвестен брой бели кръвни клетки (WBC) или проби с по-малко от 30 милиона бели кръвни клетки/ml

1. Към дъното на нова, етикетирана 50 ml конусна епруветка, добавете 100 µl протеиназа К (РК).
2. Уверете се, че кръвната проба е добре смесена, като обърнете епруветката за вземане на кръв 8 пъти непосредствено преди пипетирането. Вижте инструкциите на производителя за EDTA епруветката за вземане на кръв.
3. Към епруветката, която вече съдържа РК, добавете 4 ml кръвна проба.
4. Смесете пробата с вортекс миксер при максимална настройка непрекъснато в продължение на 3 секунди.
5. Инкубирайте на стайна температура за 1 минута.
6. Към същата епруветка добавете 2,5 ml лизисен реагент (LY).

**Забележка** Запазете останалия лизисен реагент, за да го използвате отново в Стъпка 13.

7. Смесете пробата с вортекс миксер при максимална настройка непрекъснато в продължение на 10 секунди.
8. Инкубирайте на стайна температура за 5 минути.
9. Смесете пробата с вортекс миксер при максимална настройка непрекъснато в продължение на 10 секунди.
10. Инкубирайте на стайна температура за 5 минути.
11. Смесете пробата, като потупате дъното на епруветката 10 пъти.
12. Прехвърлете 1 ml от приготвения лизат в нова, етикетирана 50 ml конусна епруветка.

**Забележка** Оставаният лизат може да се съхранява при 2°C до 8°C до 48 часа или да се съхранява при -20°C или по-ниска температура до 1 месец.

13. Към новата конусна епруветка, съдържаща лизат, добавете 1,5 ml запазен LY от Стъпка 6.
14. Смесете пробата с вортекс миксер при максимална настройка непрекъснато в продължение на 10 секунди.
15. Инкубирайте на стайна температура за 10 минути.
16. Към същата конусна епруветка добавете 2 ml абсолютен етанол от клас за реагент (осигурен от потребителя).
17. Смесете пробата с вортекс миксер при максимална настройка непрекъснато в продължение на 10 секунди. Оставете настрана.
18. Изхвърлете всички останали РК или LY реагенти.

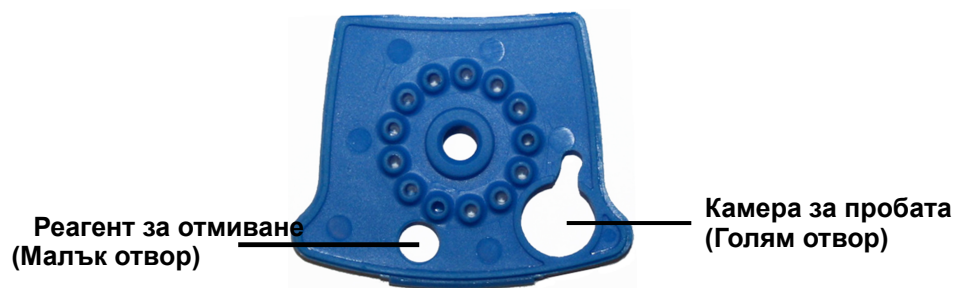
### 12.2.2 Подготовка на пробата с брой на WBC равен на или по-голям от 30 милиона WBC/ml

1. Към дъното на нова конусна епруветка от 50 ml добавете 100 µl РК.
2. Уверете се, че кръвната проба е добре смесена, като обърнете епруветката за вземане на кръв 8 пъти непосредствено преди пипетирането. Вижте инструкциите на производителя за EDTA епруветката за вземане на кръв.
3. Към епруветката, която вече съдържа РК, добавете 250 µl кръвна проба и 3,75 ml 1 x PBS (pH 7,4, осигурен от потребителя).
4. Смесете пробата с вортекс миксер при максимална настройка непрекъснато в продължение на 3 секунди.
5. Инкубирайте на стайна температура за 1 минута.
6. Следвайте Стъпки 6 – 17 в Раздел 12.2.1, за да направите крайния лизат.
7. Изхвърлете всички останали РК или LY реагенти.

## 12.3 Подготовка на касетата

За да добавите пробата към касетата Xpert NPM1 Mutation:

1. Извадете касетата от картонената опаковка.
2. Проверете касетата за повреда. Не използвайте, ако е повредена.
3. Отворете касетата, като повдигнете капака на касетата и прехвърлете цялото съдържание на една (1) ампула с реагент за измиване в камерата за реагент за измиване (с малък отвор). Вижте Фигура 1.
4. Пипетирайте цялото съдържание на приготвената проба (4,5 ml) в камерата за проба (голям отвор). Вижте Фигура 1.



Фигура 1. Xpert NPM1 Mutation Касета (изглед отгоре)

5. Затворете капака на касетата. Уверете се, че капакът щраква стабилно на място. Започнете анализа (вижте Раздел 12.4, Стартиране на анализа).

## 12.4 Започване на анализа

**Важно** Преди да започнете анализа се уверете, че системата работи със софтуер GeneXpert Dx версия 6.2 или по-нова и че в софтуера е импортиран правилният файл за дефиниране на анализа. Този раздел изброява стъпките по подразбиране за работа с GeneXpert Dx System.

**Забележка** Стъпките, които следвате, може да бъдат различни, ако системният администратор е променил работния поток на системата по подразбиране.

1. Включете системата GeneXpert, като първо включите инструмента GeneXpert Dx и след това включите компютъра. Софтуерът GeneXpert Dx ще се зареди автоматично или може да изисква щракване два пъти върху иконата за пряк достъп до софтуера GeneXpert Dx на работния плот на Windows®.
2. Влезте в софтуера GeneXpert, като използвате Вашите потребителско име и парола.
3. В прозореца **Система GeneXpert (GeneXpert System)** натиснете **Създай тест (Create Test)** (GeneXpert Dx). Отваря се прозорецът **Създай тест (Create Test)**.
4. Сканирайте или въведете идентификатора на пациента (Patient ID). Ако въведете идентификатора на пациента (Patient ID), уверете се, че е въведен точно. Идентификаторът на пациента (Patient ID) е свързан с резултатите от теста и се показва в прозореца **Разглеждане на резултати (View Results)** и във всички отчети. Отваря се диалогово каре **Сканирай баркод идентификатора на пробата (Scan Sample ID Barcode)**.
5. Сканирайте или въведете идентификатора на пробата (Sample ID). Ако въведете идентификатора на пробата (Sample ID), уверете се, че е въведен точно. ID на пробата (Sample ID) се показва от лявата страна на прозореца **Разглеждане на резултати (View Results)** и всички отчети. Отваря се диалогово каре **Сканирай баркода на касетата (Scan Cartridge barcode)**.
6. Сканирайте баркода върху касетата Xpert NPM1 Mutation. Като използва информацията от баркода, софтуерът автоматично попълва каретата за следните полета: ID на партида реагенти (Reagent Lot ID), Серийен номер на касета (Cartridge SN) и Срок на годност (Expiration Date).

**Забележка** Ако баркодът върху касетата Xpert NPM1 Mutation не се сканира, то тогава повторете анализа с нова касета. Ако сте сканирали баркода на касетата в софтуера и файлът за дефиниране на анализа не е наличен, ще се появи екран, показващ, че файлът за дефиниране на анализа не е зареден в системата. Ако се появи този екран, свържете се с отдела за техническа поддръжка на Serheid.

7. Щракнете върху **Начало на теста (Start Test)**. В диалоговото каре, което се появява, може да се наложи да въведете паролата си.
8. Отворете вратата на модула на инструмента с мигащата зелена светлина и заредете касетата.
9. Затворете вратата. Тестът стартира и зелената светлина престава да мига. Когато анализът приключи, светлината изгасва.
10. Изчакайте докато системата освободи блокировката на вратата преди да отворите вратата на модула и да извадите касетата.
11. Изхвърлете използваните касети в съответния контейнер за отпадъци от проби съгласно стандартната практика във Вашата институция.

**Забележка** Времето за получаване на резултат е по-малко от 3 часа (приблизително 30 минути подготовка на пробата извън инструмента и по-малко от 2,5 часа време за провеждане на анализа).

## 13 Разглеждане и отпечатване на резултати

Този раздел посочва основните стъпки за разглеждане и отпечатване на резултати. За по-подробни инструкции как да прегледате и отпечатате резултатите вижте *GeneXpert Dx System Operator Manual*.

- Щракнете върху иконата **Разглеждане на резултати (View Results)**, за да разгледате резултатите.
- След приключване на анализа, щракнете върху бутона **Отчет (Report)** в прозореца **Разглеждане на резултати (View Results)**, за да разгледате и/или генерирате отчет като PDF файл.

## 14 Качествен контрол

Всяка касета включва ендогенна контрола ABL1 и контрола за проверка на сондите (PCC).

**Ендогенна контрола ABL1** – ендогенната контрола ABL1 проверява дали с анализа се използва достатъчно проба. Освен това, тази контрола открива свързаното с пробите инхибиране на анализа на PCR в реално време. ABL1 се счита за успешен, ако отговаря на определените критерии за приемане.

**Контрола за проверка на сондите (PCC)** – преди началото на PCR реакцията системата GeneXpert измерва флуоресцентния сигнал от сондите, за да наблюдава рехидратацията на микросферите, пълненето на реакционната епруветка и дали всички реакционни компоненти са функционални в касетата. PCC се счита за успешен, ако отговаря на определените критерии за приемане.

## 15 Интерпретация на резултатите

Резултатите се интерпретират автоматично от системата GeneXpert от измерените флуоресцентни сигнали и вградените алгоритми за изчисление и се показват в прозореца Преглед на резултатите (View Results). Възможните резултати и интерпретации са показани в Таблица 1.

Таблица 1. Резултати от тестове с Xpert NPM1 Mutation и интерпретация

Резултат	Интерпретация
<p><b>ОТКРИТА мутация на NPM1 (NPM1 Mutation DETECTED)</b></p> <p>Вижте Фигура 2, Фигура 3, Фигура 4</p>	<p>Открит е транскрипт на мутация на NPM1.</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>ОТКРИТА мутация на NPM1 (NPM1 Mutation DETECTED) – транскриптът на мутация на NPM1 е открит и има праг на цикъла (Ct) в рамките на валидния диапазон и крайна точка над праговата настройка.</li> <li>Възможни открити резултати: <ul style="list-style-type: none"> <li>ОТКРИТА мутация на NPM1 [#,##%] (NPM1 Mutation DETECTED [#,##%]); Фигура 2.</li> <li>ОТКРИТА мутация на NPM1 [Над горната LoQ] (NPM1 Mutation DETECTED [Above upper LoQ]); Фигура 3.</li> <li>ОТКРИТА мутация на NPM1 [Под LoD; &lt; #,###%] (NPM1 Mutation DETECTED [Below LoD; &lt;#,###%]); Фигура 4.</li> </ul> </li> <li>ABL УСПЕШЕН (PASS) – транскриптът на ABL е открит и има праг на цикъла (Ct) в рамките на валидния диапазон и крайна точка над праговата настройка.</li> <li>Проверка на сондите – УСПЕШНА (PASS) – всички резултати за проверка на сондите са успешни.</li> </ul>
<p><b>НЕ Е ОТКРИТА мутация на NPM1 (NPM1 Mutation NOT DETECTED)</b></p> <p>Вижте Фигура 5</p>	<p>Не е открит транскрипт на мутация на NPM1.</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>НЕ Е ОТКРИТА мутация на NPM1 [Достатъчен транскрипт на ABL] (NPM1 Mutation NOT DETECTED [Sufficient ABL transcript]) – транскриптът на мутацията на NPM1 не е открит и има праг на цикъла (Ct) нула или над горния край на валидния диапазон и/или крайна точка под праговата настройка.</li> <li>ABL УСПЕШЕН (PASS) – транскриптът на ABL е открит и има праг на цикъла (Ct) в рамките на валидния диапазон и крайна точка над праговата настройка.</li> <li>Проверка на сондите – УСПЕШНА (PASS) – всички резултати за проверка на сондите са успешни.</li> </ul>
<p><b>НЕВАЛИДЕН (INVALID)</b></p> <p>Вижте Фигура 6, Фигура 7, Фигура 8, Фигура 9, Фигура 10</p>	<p>Нивото на транскрипта на мутацията на NPM1 не може да бъде определено поради проба, съдържаща излишък на транскрипт на мутация на NPM1 и/или излишък или недостатъчен транскрипт на ABL. Вижте Раздел 18, Ръководство за отстраняване на неизправности, за допълнителни инструкции за повторно тестване на пробата.</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>НЕВАЛИДНА мутация на NPM1 (NPM1 Mutation INVALID) – прагът на цикъла (Ct) на NPM1 е над нулата и под долния край на валидния диапазон (Фигура 8, Фигура 9)</li> <li>ABL НЕУСПЕШЕН (FAIL) – прагът на цикъла (Ct) на ABL не е в рамките на валидния диапазон или крайната точка е под праговата настройка (Фигура 6, Фигура 7, Фигура 8, Фигура 10)</li> <li>Проверка на сондите – УСПЕШНА (PASS) – всички резултати за проверка на сондите са успешни.</li> </ul>

Резултат	Интерпретация
<p><b>ГРЕШКА (ERROR)</b> Вижте Фигура 11</p>	<p>Нивото на транскрипта на мутацията на NPM1 не може да бъде определено. Вижте Раздел 18, Ръководство за отстраняване на неизправности, за допълнителни инструкции за повторно тестване на пробата.</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>● Мутация на NPM1 БЕЗ РЕЗУЛТАТ (NO RESULT)</li> <li>● ABL БЕЗ РЕЗУЛТАТ (NO RESULT)</li> <li>● Проверка на сондите – НЕУСПЕШНА (FAIL) – един или повече резултати за проверка на сондите са неуспешни.</li> <li>● Проверка на сондите – УСПЕШНА (PASS) или Неприложимо (NA) и Прекратяване на налягането (Pressure Abort)*.</li> </ul> <p>*Ако проверката на сондите е преминала успешно, грешката се дължи на границата на максималното налягане, надвишаваща приемливия диапазон, или на повреда на компонент на системата.</p>
<p><b>БЕЗ РЕЗУЛТАТ (NO RESULT)</b></p>	<p>Нивото на транскрипта на мутацията на NPM1 не може да бъде определено. Не са събрани достатъчно данни, за да се получи резултат от анализа. Например това може да се случи, ако операторът е спрял анализа, докато все още се е извършвал. Вижте Раздел 18, Ръководство за отстраняване на неизправности, за допълнителни инструкции за повторно тестване на пробите.</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>● Мутация на NPM1 БЕЗ РЕЗУЛТАТ (NO RESULT)</li> <li>● ABL БЕЗ РЕЗУЛТАТ (NO RESULT)</li> <li>● Проверка на сондите – Неприложимо (NA)</li> </ul>

## 16 Количествени резултати

Количествените резултати за Хpert NPM1 Mutation се предоставят като процентно съотношение на мутацията на NPM1/ABL1. На комплектите се присвояват специфични за партидата стойности на ефективност ( $E_{\text{ACS}}$ ) и коефициент на мащабиране (SF), които свързват количественото определяне на транскриптите на мутацията на NPM1 (A, B и D) и ABL1 с броя на копията на *in vitro* транскрибирани РНК (IVT-РНК) първични стандарти за синтетична мутация на NPM1 и ABL1.

Таблица 2. Примери за резултати от теста Хpert NPM1 Mutation

Анализ	Мутант на NPM1		ABL		Хpert NPM1 Mutation Резултати от теста	Забележки
	Ct	Резултат <sup>a</sup>	Ct	Резултат <sup>a</sup>		
1	5,2	НЕВАЛИДЕН (INVALID)	5,8	НЕУСПЕШЕН (FAIL)	НЕВАЛИДЕН [Твърде високи транскрипти на мутация на NPM1 и ABL] (INVALID [Too high NPM1 Mutation and ABL transcripts])	Неприложимо (NA)
2	9	НЕВАЛИДЕН (INVALID)	5,5	НЕУСПЕШЕН (FAIL)	НЕВАЛИДЕН [Твърде висок транскрипти на ABL] (INVALID [Too high ABL transcripts])	Неприложимо (NA)
3	5,5	НЕВАЛИДЕН (INVALID)	8,5	УСПЕШЕН (PASS)	НЕВАЛИДЕН [Твърде висок транскрипти на мутация на NPM1] (INVALID [Too high NPM1 Mutation transcripts])	Неприложимо (NA)
4	25,0	НЕВАЛИДЕН (INVALID)	21,8	НЕУСПЕШЕН (FAIL)	НЕВАЛИДЕН [Недостатъчен транскрипт на ABL] (INVALID [Insufficient ABL transcript])	Неприложимо (NA)
5	0	НЕВАЛИДЕН (INVALID)	0	НЕУСПЕШЕН (FAIL)	НЕВАЛИДЕН [Няма транскрипт на ABL] (INVALID [No ABL transcript])	Неприложимо (NA)
6	8,5	ПОЛ.	13,6	УСПЕШЕН (PASS)	ОТКРИТА мутация на NPM1 [Над горната LoQ] (NPM1 Mutation DETECTED [Above upper LoQ])	Неприложимо (NA)
7	22,5	ПОЛ.	14,8	УСПЕШЕН (PASS)	ОТКРИТА мутация на NPM1 [1,05%] (NPM1 Mutation DETECTED [1.05%])	Отчетена стойност: 1,05%
8	27,9	ПОЛ.	14,0	УСПЕШЕН (PASS)	ОТКРИТА мутация на NPM1 [Под LoD; < 0,030%]	Неприложимо (NA)
9	0	ОТР.	14,6	УСПЕШЕН (PASS)	ОТРИЦАТЕЛЕН [Достатъчен транскрипт на ABL] (NEGATIVE [Sufficient ABL transcript])	Неприложимо (NA)
10	0	БЕЗ РЕЗУЛТАТ (NO RESULT)	0	БЕЗ РЕЗУЛТАТ (NO RESULT)	ГРЕШКА (ERROR)	Например Грешка 5017 [ABL] проверката на сондите е неуспешна ([ABL] probe check failed)

<sup>a</sup> Вижте раздела Резултати за анализа (Analyte Results) в системния софтуер GeneХpert Dx за подробности.

## 16.1 ОТКРИТА мутация на NPM1 [#,#%]

Мутация на NPM1 е открита на ниво #,#%.

За резултат „ОТКРИТА мутация на NPM1 [#,#%] (NPM1 Mutation DETECTED [#,#%])“ мутацията на NPM1 се открива с Ct на мутацията на NPM1 по-голям или равен на „6“ и по-малък или равен на „32“ и Ct на ABL по-голям или равен на „6“ и по-малък или равен на „20“. Софтуерът GeneXpert изчислява процента, използвайки следното уравнение, където стойността на делта Ct ( $\Delta Ct$ ) се получава от Ct на ABL минус Ct на мутацията на NPM1:

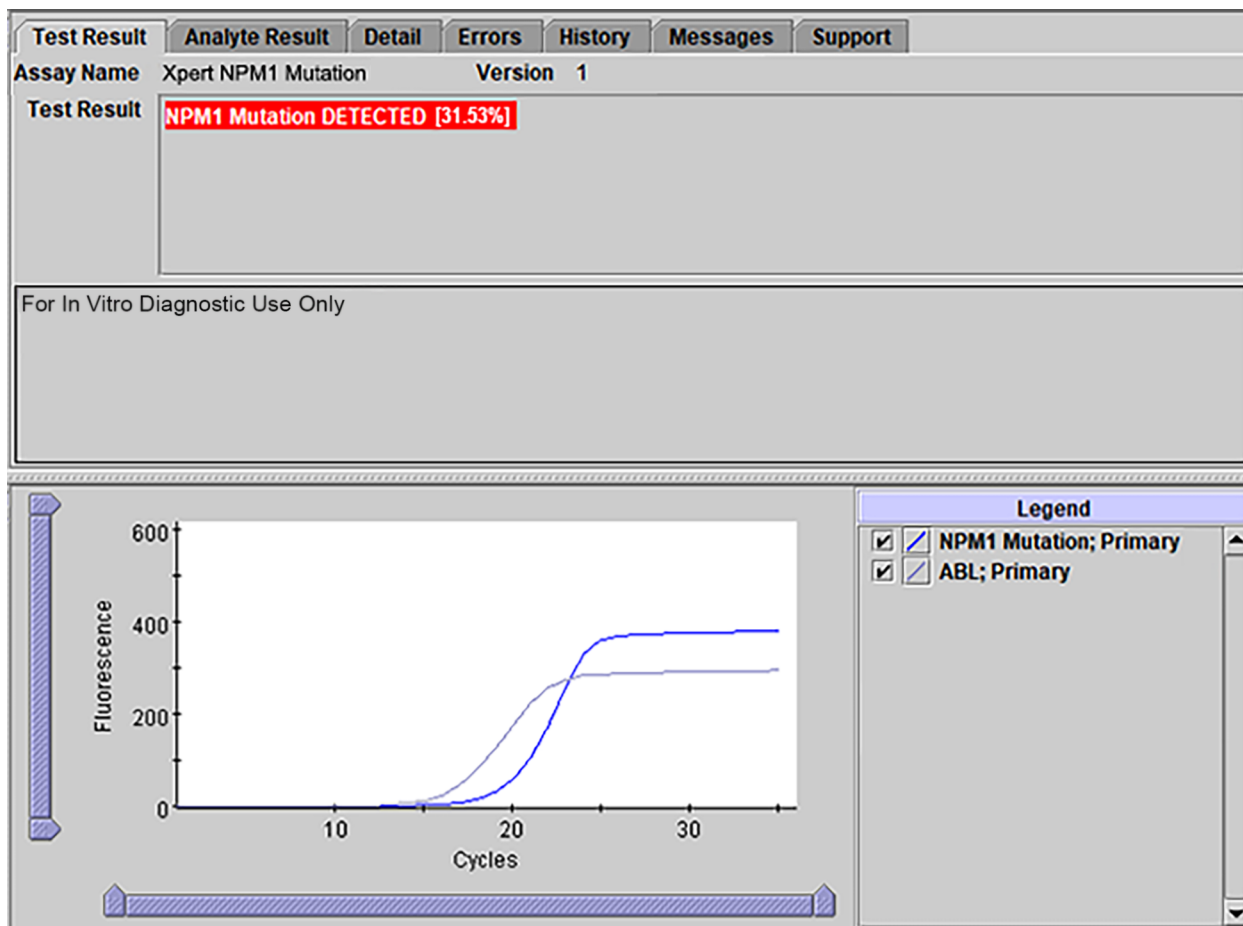
$$\% = E_{\Delta Ct}^{\Delta Ct} \times 100 \times \text{Коефициент на мащабиране}$$

Коефициентът на мащабиране ( $SF$ ) е специфичен за партидата параметър, който е вграден в баркода на касетата за анализ. Стойността на този коефициент и специфичната за партидата ефективност на анализа ( $E_{\Delta Ct}$ ) се определят при тестване за контрол на качеството на всяка партида на анализа, като се използват първични стандарти, калибрирани спрямо броя на копията на *in vitro* транскрибирани РНК (IVT-РНК) калибратори за синтетична мутация на NPM1 и ABL1 за количествено определяне на транскрипт на мутация на NPM1.  $E_{\Delta Ct}$  е настроен на 1,95, а стойността на  $SF$  е зададена на 1,79 за използване в примера, показан тук.

### Забележка

**Пример:** Специфичен за партидата  $E_{\Delta Ct} = 1,95$ ;  $SF = 1,79$   
Ct на ABL за анализа = 14,5; Ct на мутация на NPM1 = 17,1;  $\Delta Ct = -2,6$   
 $\% = 1,95^{(-2,6)} \times 100 \times 1,79 = 31,53\%$

**Резултат:** **ОТКРИТА мутация на NPM1 [31,53%] (NPM1 Mutation DETECTED [31.53%]).** Вижте Фигура 2.



Фигура 2. GeneXpert Dx – Прозорец Разглеждане на резултати: ОТКРИТА мутация на NPM1 [31,53%]

## 16.2 ОТКРИТА мутация на NPM1 [Над горната LoQ] (NPM1 Mutation DETECTED [Above upper LoQ])

Мутация на NPM1 е открита на ниво > 500%.

За резултат „ОТКРИТА мутация на NPM1 [Над горната LoQ] (NPM1 Mutation DETECTED [Above upper LoQ])“ мутацията на NPM1 се открива с Ct на мутацията на NPM1 по-голям или равен на „6“ и по-малък или равен на „32“ и Ct на ABL по-голям или равен на „6“ и по-малък или равен на „20“. Софтуерът GeneXpert изчислява процента, използвайки следното уравнение, където стойността на делта Ct ( $\Delta Ct$ ) се получава от Ct на ABL минус Ct на мутацията на NPM1:

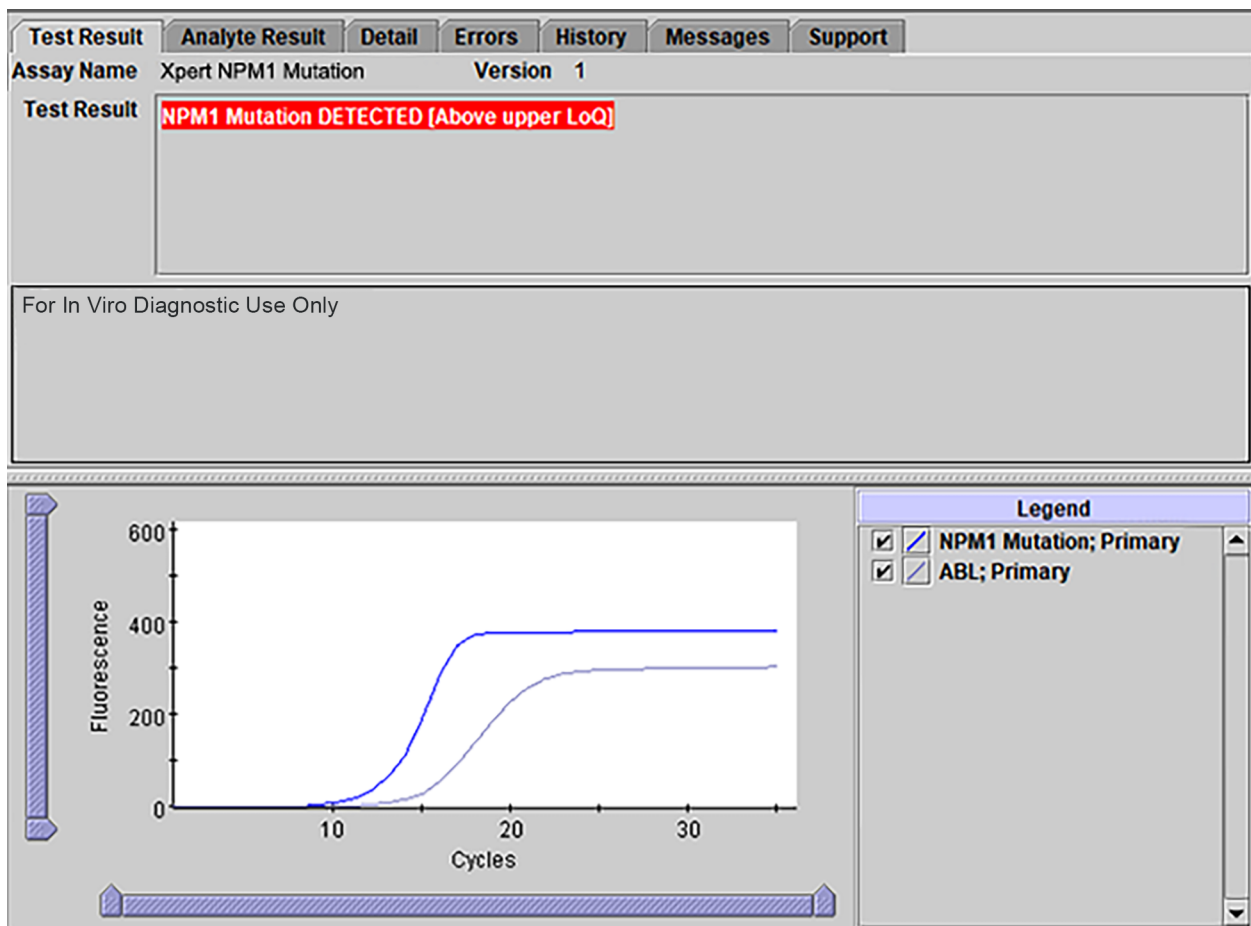
$$\% = E_{\Delta Ct}^{(\Delta Ct)} \times 100 \times \text{Коефициент на мащабиране (SF)}$$

Коефициентът на мащабиране (SF) е специфичен за партидата параметър, който е вграден в баркода на касетата за анализ. Стойността на този коефициент и специфичната за партидата ефективност на анализа ( $E_{\Delta Ct}$ ) се определят при тестване за контрол на качеството на всяка партида на анализа, като се използват първични стандарти, калибрирани спрямо броя на копията на *in vitro* транскрибирани РНК (IVT-РНК) калибратори за синтетична мутация на NPM1 и ABL1 за количествено определяне на транскрипт на мутацията на NPM1.  $E_{\Delta Ct}$  е настроен на 1,95, а стойността на SF е зададена на 1,79 за използване в примера, показан тук.

### Забележка

**Пример:** Специфичен за партидата  $E_{\Delta Ct} = 1,95$ ;  $SF = 1,79$   
 Ct на ABL за анализа = 13,4; Ct на мутация на NPM1 = 10,2;  $\Delta Ct = 3,2$   
 $\% = 1,95^{(3,2)} \times 100 \times 1,79 = 1516,92\%$  е по-голям от определената горна LoQ на анализа при 500%

**Резултат:** **ОТКРИТА мутация на NPM1 [Над горната LoQ] (NPM1 Mutation DETECTED [Above upper LoQ])**. Вижте Фигура 3.



Фигура 3. GeneXpert Dx – Прозорец Разглеждане на резултати: ОТКРИТА мутация на NPM1 [Над горната LoQ] (NPM1 Mutation DETECTED [Above upper LoQ])



### 16.3 ОТКРИТА мутация на NPM1 [Под LoD; < 0,030%]

Мутация на NPM1 е открита на ниво < 0,030%.

За резултат „ОТКРИТА мутация на NPM1 [Под LoD; < 0,030%] (NPM1 Mutation DETECTED [Below LoD; <0.030%])“ мутацията на NPM1 се открива с Ct на мутацията на NPM1 по-голям или равен на „6“ и по-малък или равен на „32“ и Ct на ABL по-голям или равен на „6“ и по-малък или равен на „20“. Софтуерът GeneXpert изчислява процента, използвайки следното уравнение, където стойността на делта Ct ( $\Delta Ct$ ) се получава от Ct на ABL минус Ct на мутацията на NPM1:

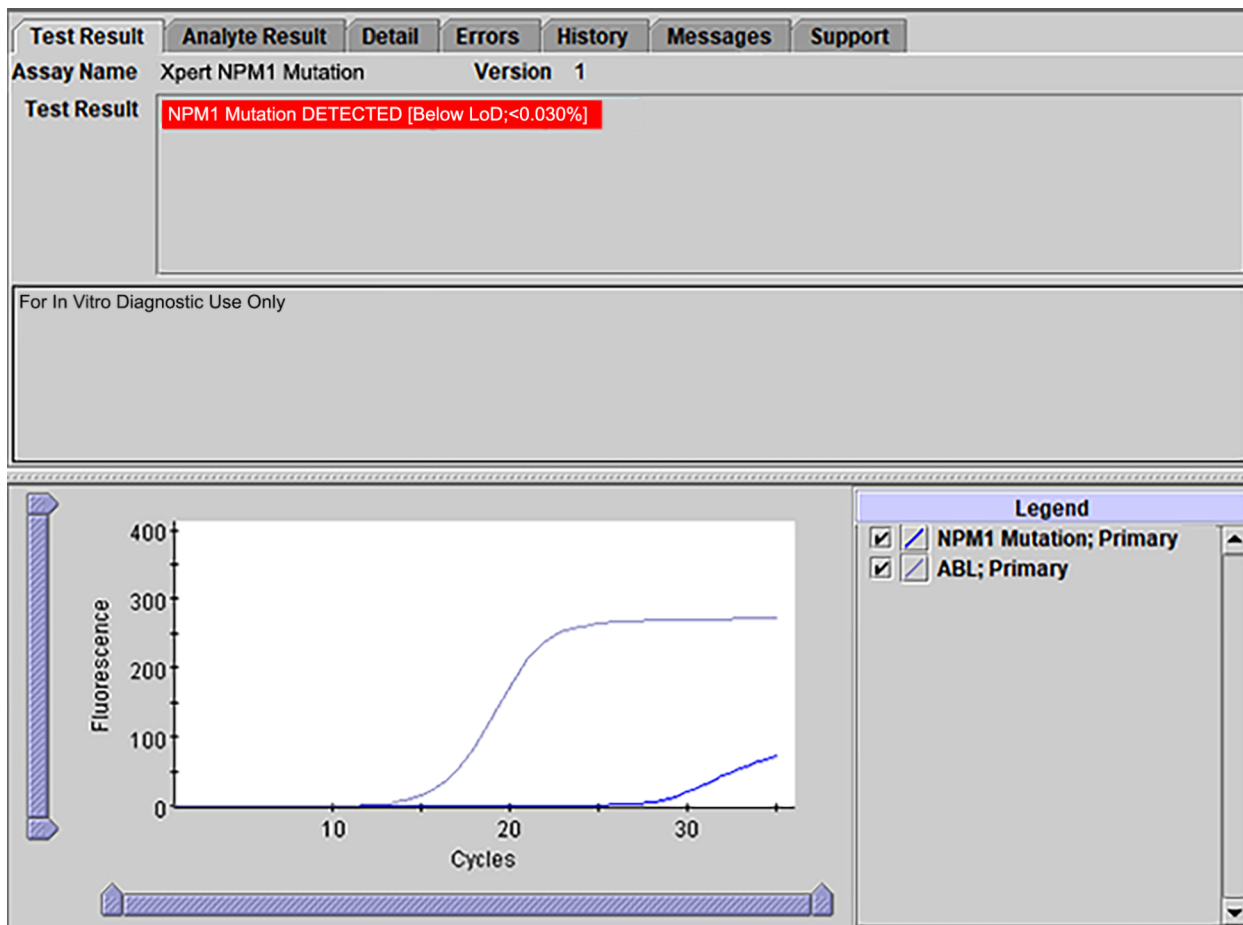
$$\% = E_{\Delta Ct}^{\Delta Ct} \times 100 \times \text{Коефициент на мащабиране (SF)}$$

Коефициентът на мащабиране (SF) е специфичен за партидата параметър, който е вграден в баркода на касетата за анализ. Стойността на този коефициент и специфичната за партидата ефективност на анализа ( $E_{\Delta Ct}$ ) се определят при тестване за контрол на качеството на всяка партида на анализа, като се използват първични стандарти, калибрирани спрямо броя на копията на *in vitro* транскрибирани РНК (IVT-РНК) калибратори за синтетична мутация на NPM1 и ABL1 за количествено определяне на транскрипт на мутация на NPM1.  $E_{\Delta Ct}$  е настроен на 1,95, а стойността на SF е зададена на 1,79 за използване в примера, показан тук.

#### Забележка

**Пример:** Специфичен за партидата  $E_{\Delta Ct} = 1,95$ ;  $SF = 1,79$   
 Ct на ABL за анализа = 14,3; Ct на мутация на NPM1 = 28,8;  $\Delta Ct = -14,5$   
 $\% = 1,95^{(-14,5)} \times 100 \times 1,79 = 0,011\%$  е по-малък от определената LoD на анализа при 0,030%

**Резултат:** **ОТКРИТА мутация на NPM1 [Под LoD; < 0,030%] (NPM1 Mutation DETECTED [Below LoD; <0.030%]).** Вижте Фигура 4.



Фигура 4. GeneXpert – прозорец Разглеждане на резултати: ОТКРИТА мутация на NPM1 [Под LoD; < 0,030%]

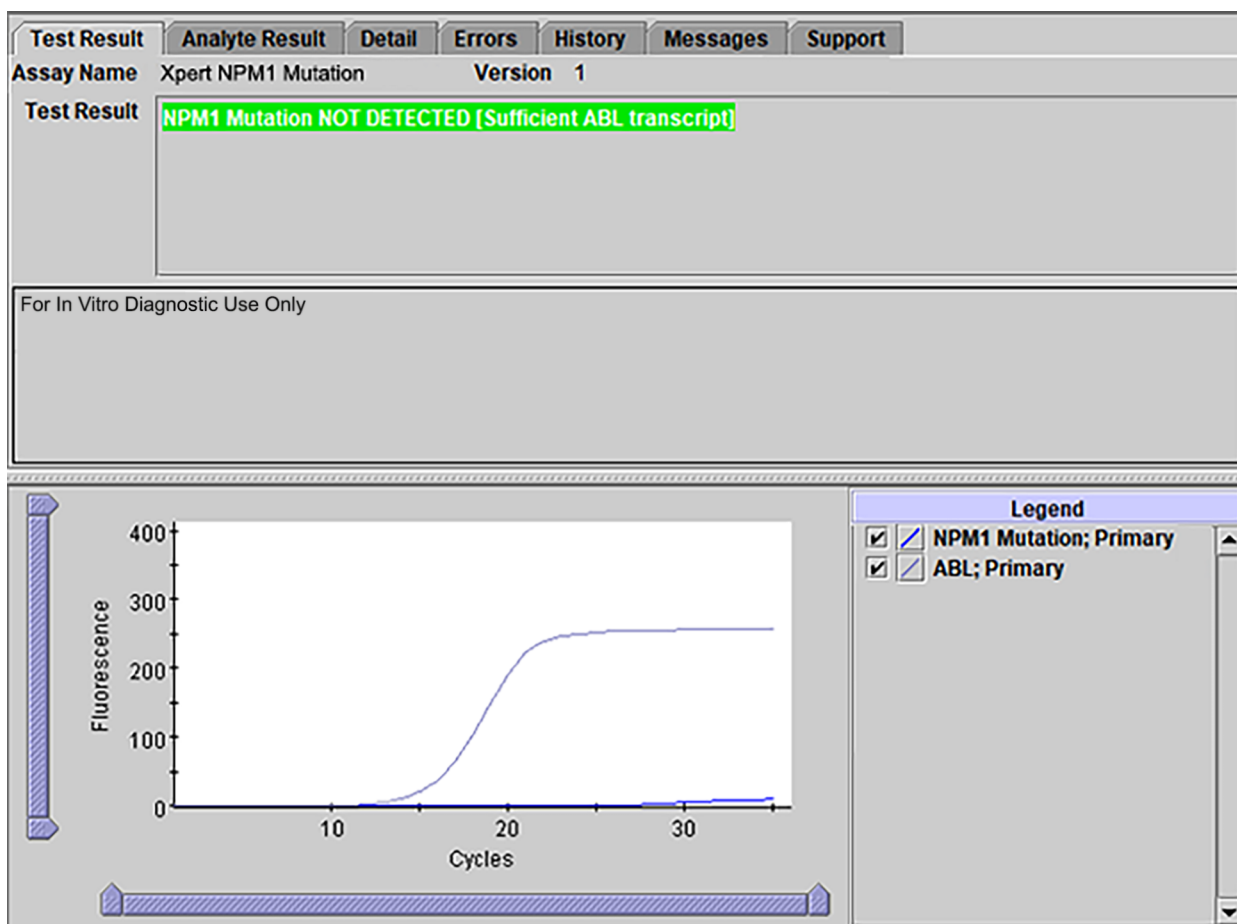
## 16.4 НЕ Е ОТКРИТА мутация на NPM1 [Достатъчен транскрипт на ABL] (NPM1 Mutation NOT DETECTED [Sufficient ABL transcript])

Не е открита мутация на NPM1 с Ct на NPM1 равен на „0“ или по-голям от „32“ и Ct на ABL по-голям от „6“ и по-малък или равен на „20“.

Софтуерът GeneXpert изисква Ct на ABL да бъде по-голям или равен на „6“ и по-малък или равен на „20“, за да се гарантира, че тестът Xpert NPM1 Mutation има „Достатъчен транскрипт на ABL (Sufficient ABL transcript)“. Вижте Раздел 15, Тълкуване на резултатите, Таблица 1.

**Пример:** Ct на мутация на NPM1 за анализа = 0; Ct на ABL = 14,0 е между „6“ и „20“.

**Резултат:** **НЕ Е ОТКРИТА мутация на NPM1 [Достатъчен транскрипт на ABL] (NPM1 Mutation NOT DETECTED [Sufficient ABL transcript]).** Вижте Фигура 5.



Фигура 5. GeneXpert – прозорец Разглеждане на резултати: НЕ Е ОТКРИТА мутация на NPM1 [Достатъчен транскрипт на ABL] (NPM1 Mutation NOT DETECTED [Sufficient ABL transcript])

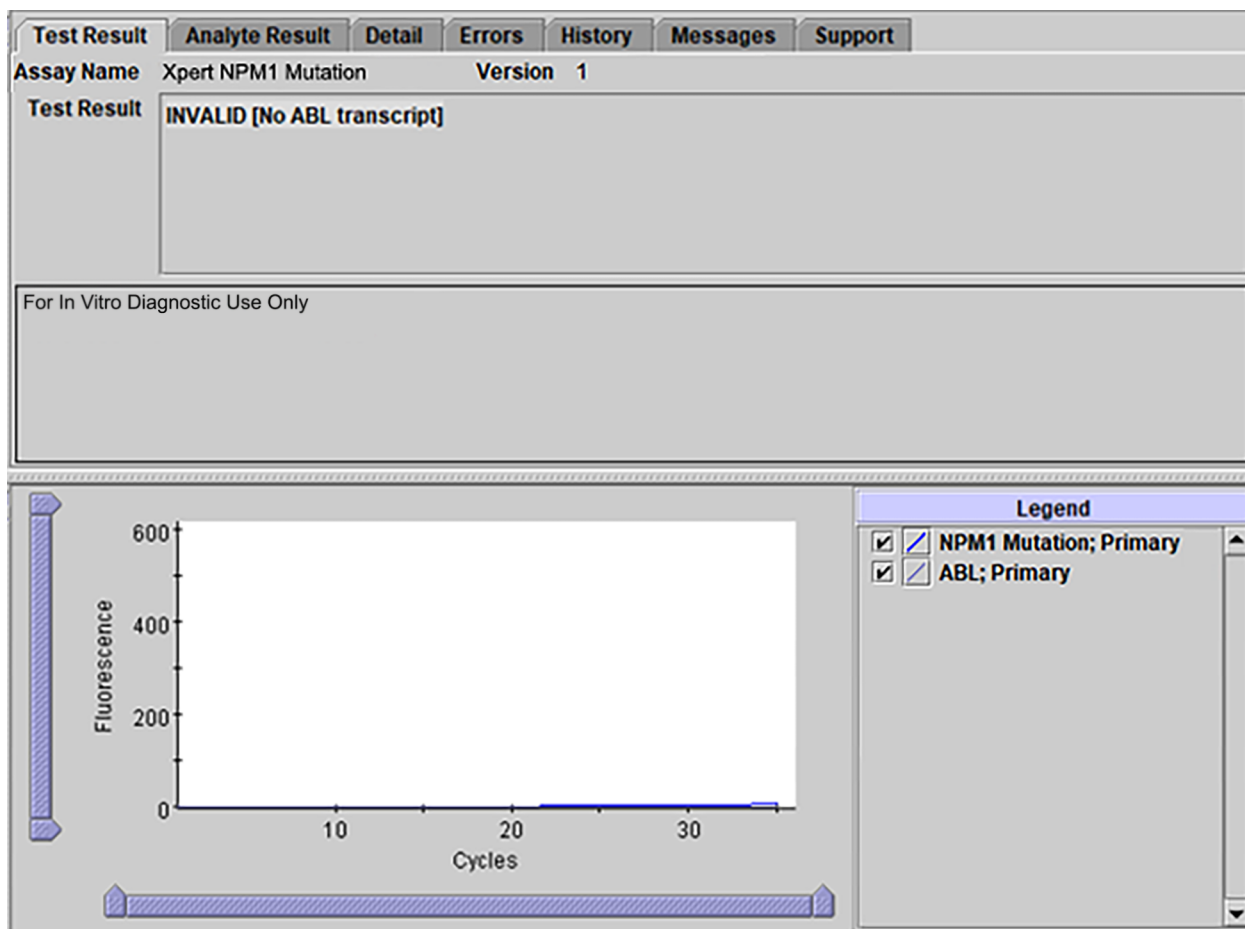
## 16.5 НЕВАЛИДЕН [Няма транскрипт на ABL] (INVALID [No ABL transcript])

Открита е мутация на NPM1 или не е открита с Ct на ABL равен на „0“.

Софтуерът GeneХpert изисква Ct на ABL да бъде по-голям или равен на „6“ и по-малък или равен на „20“, за да се гарантира, че тестът Хpert NPM1 Mutation има „Достатъчен транскрипт на ABL (Sufficient ABL transcript)“. Вижте Раздел 18, Ръководство за отстраняване на неизправности.

**Пример:** Ct на мутация на NPM1 за анализа = 0; Ct на ABL = 0.

**Резултат:** **НЕВАЛИДЕН [Няма транскрипт на ABL] (INVALID [No ABL transcript])**. Вижте Фигура 6.



Фигура 6. GeneХpert – прозорец Разглеждане на резултати:  
НЕВАЛИДЕН [Няма транскрипт на ABL] (INVALID [No ABL transcript])

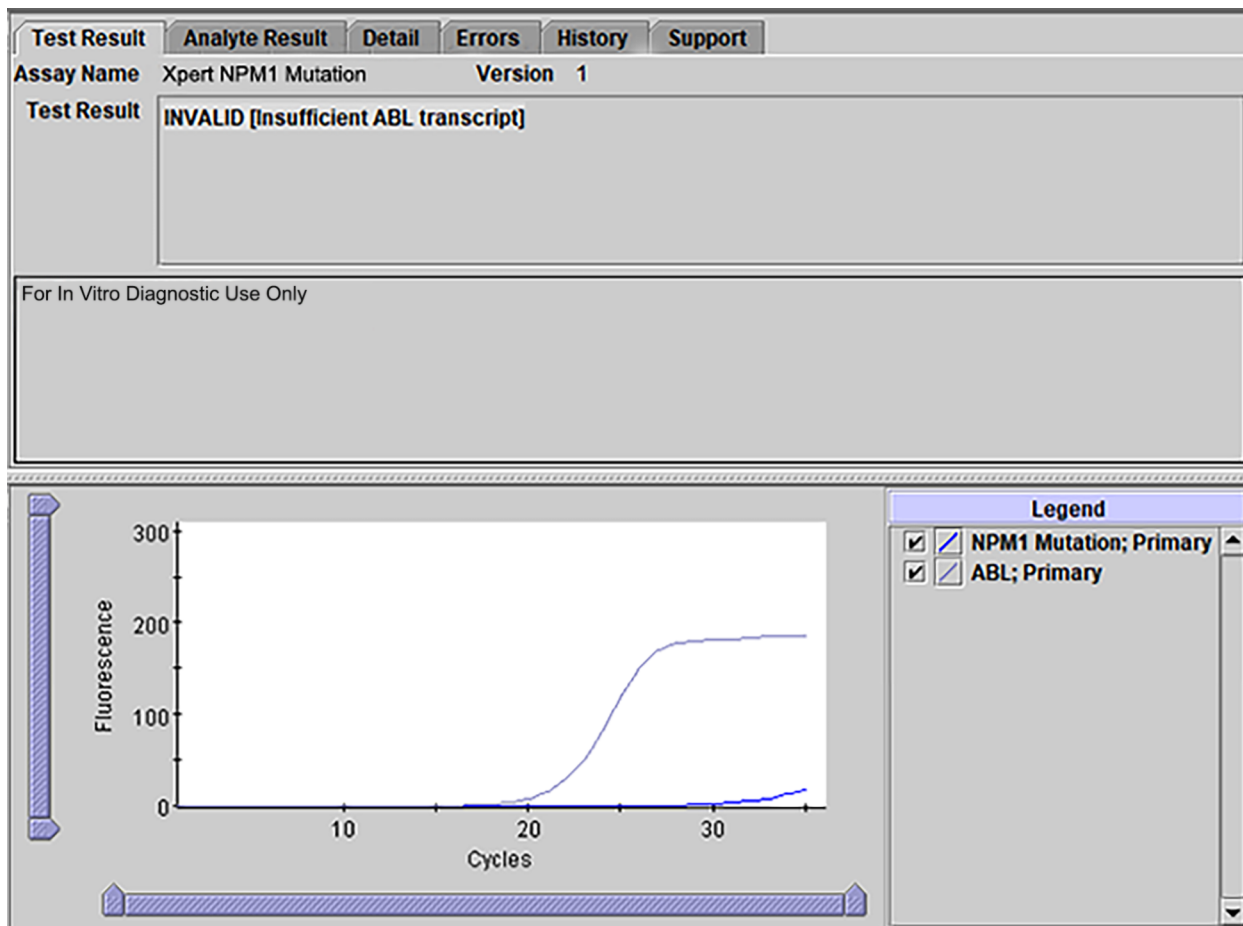
## 16.6 НЕВАЛИДЕН [Недостатъчен транскрипт на ABL] (INVALID [Insufficient ABL transcript])

Открита е мутация на NPM1 или не е открита с Ct на ABL по-голям от „20“.

Софтуерът GeneХpert изисква Ct на ABL да бъде по-голям или равен на „6“ и по-малък или равен на „20“, за да се гарантира, че тестът Хpert NPM1 Mutation има „Достатъчен транскрипт на ABL (Sufficient ABL transcript)“. Вижте Раздел 18, Ръководство за отстраняване на неизправности.

**Пример:** Ct на мутация на NPM1 за анализа = 33,3; Ct на ABL = 20,2 е по-голям от „20“.

**Резултат:** НЕВАЛИДЕН [Недостатъчен транскрипт на ABL] (INVALID [Insufficient ABL transcript]). Вижте Фигура 7.



Фигура 7. GeneХpert – прозорец Разглеждане на резултати: НЕВАЛИДЕН [Недостатъчен транскрипт на ABL] (INVALID [Insufficient ABL transcript])

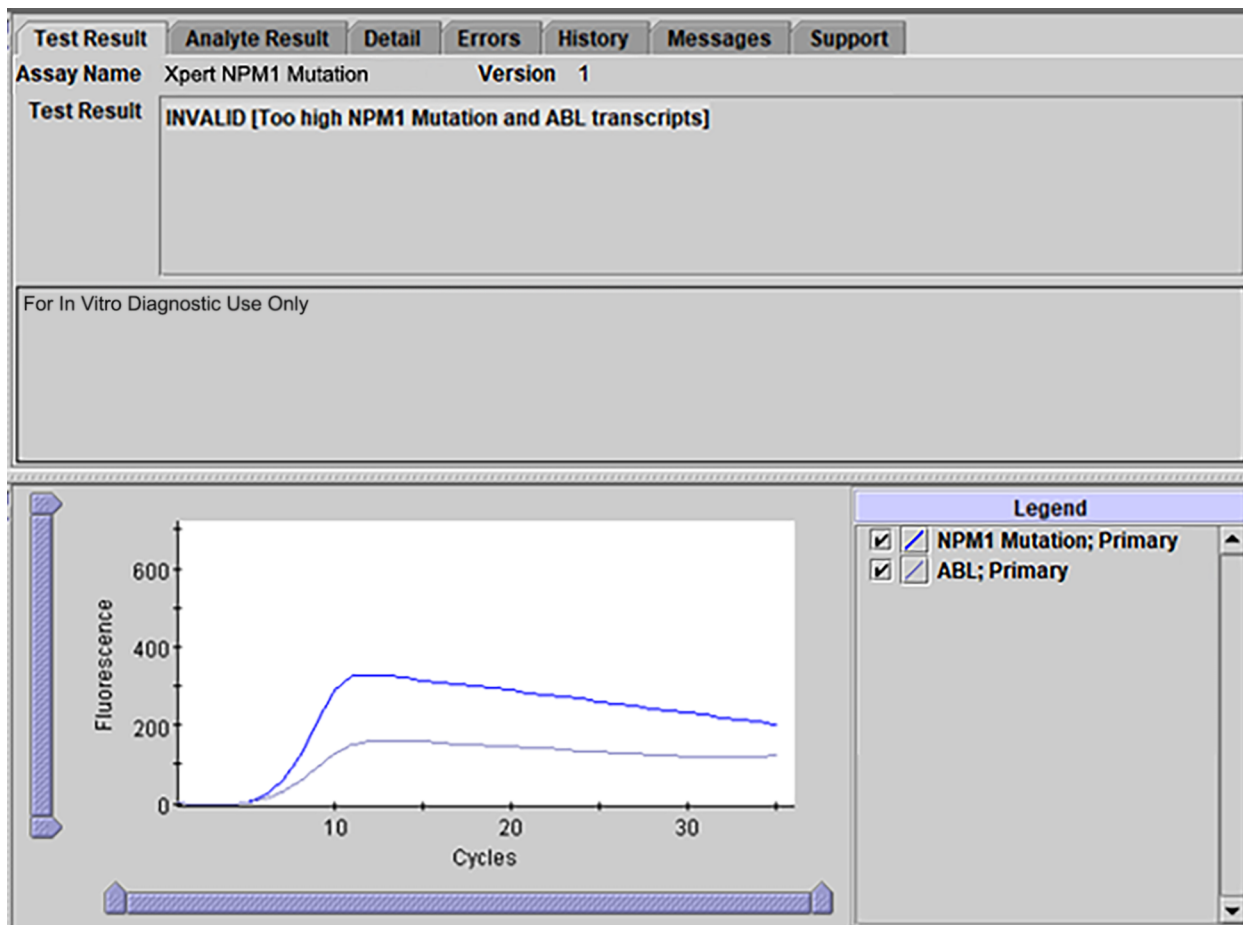
## 16.7 НЕВАЛИДЕН [Твърде висок транскрипт на мутация на NPM1 и ABL] (INVALID [Too high NPM1 Mutation and ABL transcript])

Открита е мутация на NPM1 с Ct на мутация на NPM1 и Ct на ABL по-големи от „0“ и по-малки от „6“.

Софтуерът GeneХpert изисква Ct на ABL да бъде по-голям или равен на „6“ и по-малък или равен на „20“, за да се гарантира, че тестът Хpert NPM1 Mutation има „Достатъчен транскрипт на ABL (Sufficient ABL transcript)“. Вижте Раздел 18, Ръководство за отстраняване на неизправности.

**Пример:** Ct на мутация на NPM1 за анализа = 5,4 е по-голям от „0“ и по-малък от „6“; Ct на ABL = 5,9 е по-малък от „6“.

**Резултат:** **НЕВАЛИДЕН [Твърде висок транскрипт на мутация на NPM1 и ABL] (INVALID [Too high NPM1 Mutation and ABL transcript])**. Вижте Фигура 8.



Фигура 8. GeneХpert Dx – Прозорец Разглеждане на резултати: НЕВАЛИДЕН [Твърде висок транскрипт на мутация на NPM1 и ABL] (INVALID [Too high NPM1 Mutation and ABL transcript])

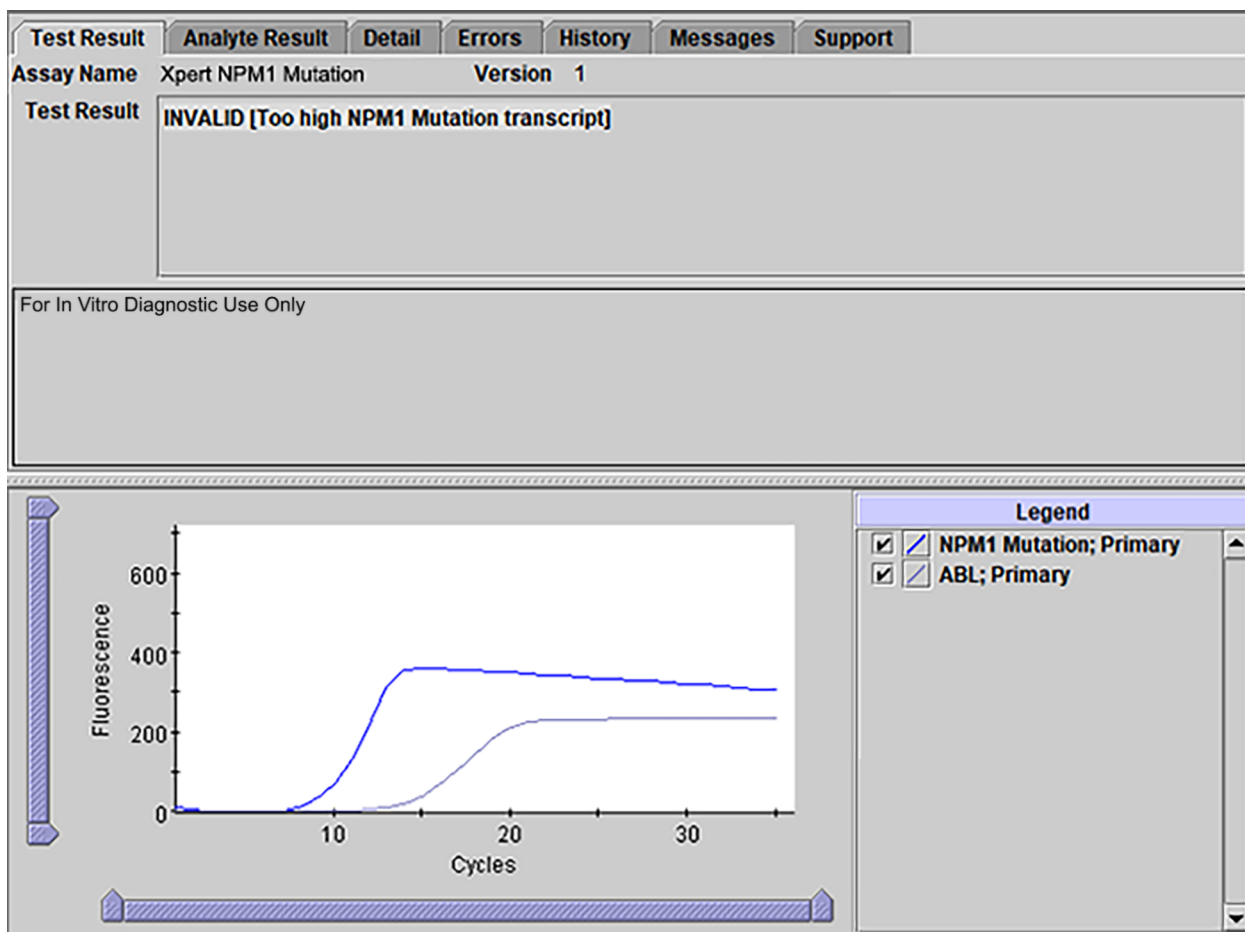
## 16.8 НЕВАЛИДЕН [Твърде висок транскрипт на мутация на NPM1] (INVALID [Too high NPM1 Mutation transcript])

Открита е мутация на NPM1 с Ct на мутация на NPM1 по-голям от „0“ и по-малък от „6“ и Ct на ABL по-голям от „6“ и по-малък или равен на „20“.

Софтуерът GeneХpert изисква Ct на ABL да бъде по-голям или равен на „6“ и по-малък или равен на „20“, за да се гарантира, че тестът Хpert NPM1 Mutation има „Достатъчен транскрипт на ABL (Sufficient ABL transcript)“. Вижте Раздел 18, Ръководство за отстраняване на неизправности.

**Пример:** Ct на мутация на NPM1 за анализа = 5,8 е по-голям от „0“ и по-малък от „6“; Ct на ABL = 13 е между „6“ и „20“.

**Резултат:** НЕВАЛИДЕН [Твърде висок транскрипт на мутация на NPM1] (INVALID [Too high NPM1 Mutation transcript]). Вижте Фигура 9.



Фигура 9. GeneХpert – прозорец Разглеждане на резултати: НЕВАЛИДЕН [Твърде висок транскрипт на мутация на NPM1] (INVALID [Too high NPM1 Mutation transcript])

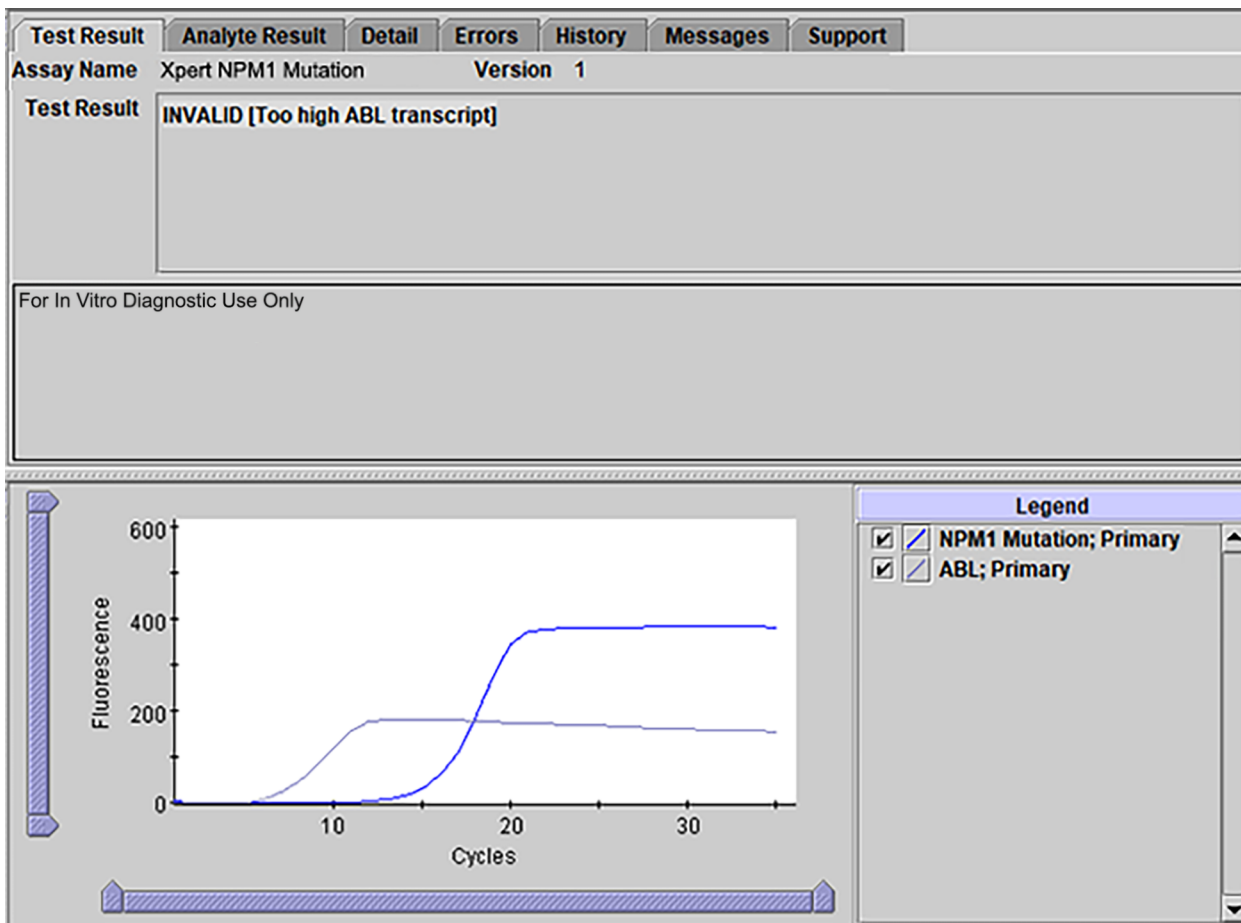
## 16.9 НЕВАЛИДЕН [Твърде висок транскрипт на мутация на ABL] (INVALID [Too high ABL Mutation transcript])

Открита е мутация на NPM1 с Ct на мутация на NPM1 по-голям от „6“ и по-малък или равен на „32“ и Ct на ABL не равен на „0“ и по-малък от „6“.

Софтуерът GeneХpert изисква Ct на ABL да бъде по-голям или равен на „6“ и по-малък или равен на „20“, за да се гарантира, че тестът Хpert NPM1 Mutation има „Достатъчен транскрипт на ABL (Sufficient ABL transcript)“. Вижте Раздел 18, Ръководство за отстраняване на неизправности.

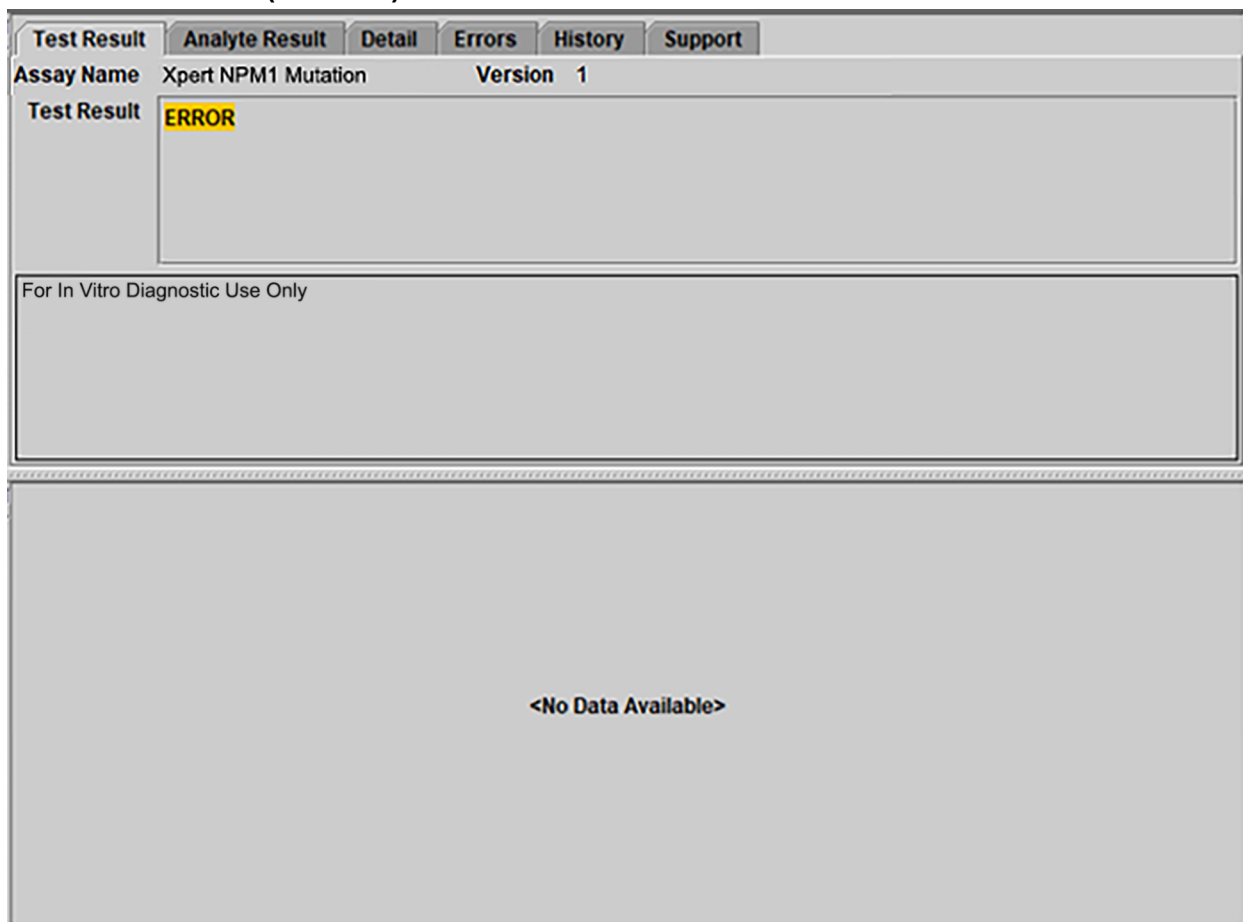
**Пример:** Ct на мутация на NPM1 за анализа = 13,2; Ct на ABL = 5,8 е по-малък от „6“.

**Резултат:** **НЕВАЛИДЕН [Твърде висок транскрипт на ABL] (INVALID [Too high ABL transcript])**. Вижте Фигура 10.



Фигура 10. GeneХpert – прозорец Разглеждане на резултати: НЕВАЛИДЕН [Твърде висок транскрипт на ABL] (INVALID [Too high ABL transcript])

## 16.10 ГРЕШКА (ERROR)



Фигура 11. GeneXpert – прозорец Разглеждане на резултати: ГРЕШКА (ERROR)

## 17 Ограничения на анализа

- Анализът не е предназначен да се използва с външни калибратори.
- Модификациите на тези процедури може да променят функцията на анализа.
- Този продукт е предназначен за употреба само с кръв, събрана в епруветки с EDTA.
- Не използвайте хепарин като антикоагулант, тъй като той може да инхибира PCR реакцията.
- Типовете проби от натриев цитрат, buffy-coat (фракция, богата на тромбоцити, левкоцити и еритроцити) и костен мозък не са валидирани.
- Грешни резултати от анализа може да се появят от неправилно взимане на пробата, боравене или съхранение или объркване на пробите. Внимателното придържане към инструкциите за употреба е необходимо за избягване на грешни резултати.
- Мутации или полиморфизми в праймера или зоните на свързване на сондата може да се отрази на откриването на нови или неизвестни варианти и може да доведе до фалшиво отрицателен резултат.
- Прекомерно високият брой на белите кръвни клетки може да доведе до натрупване на налягане в касетата и да доведе до прекратени тестове или неточни резултати.
- Някои проби с много ниски нива на транскрипт на ABL или с бели кръвни клетки по-ниски от 150 000 клетки/ml може да бъдат отчетени като **НЕВАЛИДНИ (INVALID)** (Тип 1). Неопределен резултат не изключва наличието на много ниски нива на левкемични клетки в пробата.



## 18 Ръководство за отстраняване на неизправности

Таблица 3. Ръководство за отстраняване на неизправности

Резултат от анализа	Възможни причини	Предложения
<b>НЕВАЛИДЕН (INVALID)</b>	<p>Тип 1: Неуспешна ендогенна контрола ABL:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Лошо качество на пробата</li> <li>• RT-PCR инхибиране</li> <li>• Ct на ABL &gt; 20 и/или крайна точка &lt; 100</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Проверете качеството на пробата (например превишено изискване за съхранение на пробата, включително време и температура).</li> <li>• Повторете анализа с оригиналната проба (ако е налична) или от запазен лизат и нова касета, следвайки процедурата, описана в Раздел 19.1, Процедура за повторен тест при ГРЕШКА (ERROR) или НЕВАЛИДЕН (INVALID) (Тип 1).</li> </ul>
	<p>Тип 2: Нивото на транскрипта на мутацията на NPM1 не може да бъде определено поради проба, съдържаща излишък на транскрипти на мутация на NPM1 и/или ABL (Ct &lt; 6)</p>	<p>Повторете анализа с оригиналната проба (ако е налична) или от запазен лизат и нова касета, следвайки процедурата, описана в Раздел 19.2, Процедура за повторен тест при ГРЕШКА (ERROR) – Код 2008 или НЕВАЛИДЕН (INVALID) – Тип 2.</p>
<b>ГРЕШКА (ERROR) – Код 2008</b>	<p>Налягането превишава границата (съобщение за грешка 2008)</p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Проверете качеството на пробата</li> <li>• Проверете за силно повишен брой на WBC</li> <li>• Повторете анализа с оригиналната проба (ако е налична) или от запазен лизат и нова касета, следвайки процедурата, описана в Раздел 19.2, Процедура за повторен тест при ГРЕШКА (ERROR) – Код 2008 или НЕВАЛИДЕН (INVALID) – Тип 2.</li> </ul>
<p><b>ГРЕШКА (ERROR) – Код 5006, 5007, 5008 и 5009*</b></p> <p>*Това не е изчерпателен списък на кодовете за ГРЕШКА (ERROR).</p>	<p>Неуспешна проверка на сондите</p>	<p>Повторете анализа с оригиналната проба (ако е налична) или от запазен лизат и с нова касета, следвайки процедурата, описана в Раздел 19.1, Процедура за повторен тест при ГРЕШКА (ERROR) или НЕВАЛИДЕН (INVALID) (Тип 1).</p>
<b>БЕЗ РЕЗУЛТАТ (NO RESULT)</b>	<p>Неуспешно събиране на данни. Например операторът е спрял анализа, докато все още се е извършвал, или е спряло електрозахранването.</p>	<p>Повторете анализа с оригиналната проба (ако е налична) или от запазен лизат и с нова касета, следвайки процедурата, описана в Раздел 19.1, Процедура за повторен тест при ГРЕШКА (ERROR) или НЕВАЛИДЕН (INVALID) (Тип 1).</p>

## 19 Повторни тестове

### 19.1 Процедура за повторен тест при ГРЕШКА (ERROR) или НЕВАЛИДЕН (INVALID) (Тип 1)

Повторно тествайте проби с резултати **ГРЕШКА (ERROR)** или **НЕВАЛИДЕН (INVALID)** поради праг на цикъла (Ct) на ABL, надвишаващ максимално валидния Ct ( $Ct > 20$ ), или ако крайната точка е под праговата настройка ( $< 100$ ). Освен това вижте Раздел 18, Ръководство за отстраняване на неизправности.

1. Ако е наличен достатъчен обем кръвна проба, тествайте отново от оригиналната епруветка за вземане на кръвни проби, следвайки процедурата в Раздел 12.2.

ИЛИ

Ако обемът на кръвната проба е недостатъчен, може да се извърши повторно тестване със запазения лизат от Раздел 12.2.1, Стъпка 12.

- a. Ако запазен лизат от Раздел 12.2.1, Стъпка 12 се съхранява замразен, размразете до стайна температура преди употреба.
  - b. Уверете се, че лизатът е добре смесен, като смесите пробата с вортекс миксер при максимална настройка непрекъснато за 10 секунди и го оставите настрана за 3 минути, за да се утаят мехурчетата.
2. Прехвърлете 1 ml от приготвения лизат в нова 50 ml конусна епруветка.
  3. Следвайте Стъпки 13 – 17 в Раздел 12.2.1, за да направите крайния лизат.
  4. Отворете касетата, като повдигнете капака на касетата и прехвърлете цялото съдържание на една (1) ампула с реагент за измиване в камерата за реагент за измиване (с малък отвор). Вижте Фигура 1.
  5. Пипетирайте цялото съдържание на приготвената проба в камерата за проба (голям отвор). Вижте Фигура 1.
  6. Затворете капака на касетата. Започнете анализа (вижте Раздел 12.4, Стартиране на анализа).

### 19.2 Процедура за повторен тест при ГРЕШКА (ERROR) – Код 2008 или НЕВАЛИДЕН (INVALID) – Тип 2

Повторно тествайте проби с нива на транскрипта на мутацията на NPM1 и/или ABL под валидния минимален Ct ( $Ct > 0$  и  $Ct < 6$ ) и/или когато границата на налягането е надвишена. Освен това вижте Раздел 18, Ръководство за отстраняване на неизправности.

1. Към дъното на нова конусна епруветка от 50 ml добавете 100 µl PK (протеиназа K).
2. Уверете се, че кръвната проба или остатъчният лизат от Раздел 12.2, Стъпка 12 е добре смесен чрез обръщане на епруветката 8 пъти непосредствено преди пипетиране.
3. Към епруветката, която вече съдържа протеиназа K, добавете 250 µl кръвна проба и 3,75 ml PBS (pH 7,4, осигурен от потребителя), ако е наличен, или 60 µl запазен лизат от Раздел 12.2.1, Стъпка 12.
  - a. Ако запазен лизат от Раздел 12.2.1, Стъпка 12 се съхранява замразен, размразете до стайна температура преди употреба.
  - b. Уверете се, че лизатът е добре смесен, като смесите пробата с вортекс миксер при максимална настройка непрекъснато за 10 секунди и го оставите настрана за 3 минути, за да се утаят мехурчетата.
4. Смесете пробата с вортекс миксер при максимална настройка непрекъснато в продължение на 3 секунди.
5. Инкубирайте на стайна температура за 1 минута.
6. За повторно тестване на кръвна проба с PBS следвайте Стъпки 6 – 17 в Раздел 12.2.1, за да направите крайния лизат. За повторно тестване на проба от запазен лизат следвайте Стъпки a – g по-долу, за да направите крайния лизат.
  - a. Към епруветката с проба за повторно тестване на запазен лизат добавете 2,5 ml LY.
  - b. Смесете пробата с вортекс миксер при максимална настройка непрекъснато в продължение на 10 секунди.
  - c. Инкубирайте на стайна температура за 5 минути.
  - d. Смесете пробата с вортекс миксер при максимална настройка непрекъснато в продължение на 10 секунди.
  - e. Инкубирайте на стайна температура за 5 минути.
  - f. Към същата епруветка добавете 2 ml абсолютен етанол от клас за реагент (осигурен от потребителя).
  - g. Смесете пробата с вортекс миксер при максимална настройка непрекъснато в продължение на 10 секунди. Оставете настрана.

7. Отворете касетата, като повдигнете капака на касетата и прехвърлете цялото съдържание на една (1) ампула с реагент за измиване в камерата за реагент за измиване (с малък отвор). Вижте Фигура 1.
8. Пипетирайте цялото съдържание на приготвената проба в камерата за проба (голям отвор). Вижте Фигура 1.
9. Затворете капака на касетата. Започнете анализа (вижте Раздел 12.4, Стартиране на анализа).

## 20 Очаквани стойности

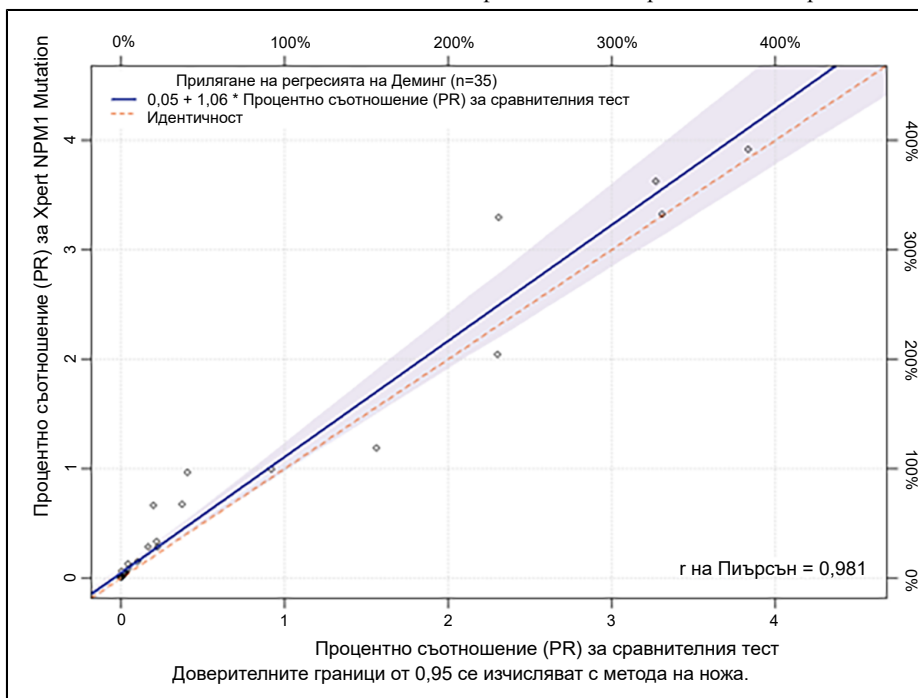
Диапазонът на Xpert NPM1 Mutation обхваща ключови точки за клинично решение за наблюдение на AML. Очакваните стойности са изразени като процентно съотношение на иРНК на мутацията на NPM1 към иРНК на ABL и варират между 0,030% и 500%. Измерванията под този диапазон се отчитат като неоткрити или под границата на откриване (LoD). Измерванията над този диапазон се отчитат като над границата на количествено определяне (LoQ). Вижте Раздел 15 за подробности.

## 21 Клинично действие

Многоцентрово проучване за сравнение на методите на наблюдение е проведено в три центъра в Съединените щати и един център извън Съединените щати. В проучването са включени проби от 40 отделни пациенти с остра миелоидна левкемия (AML) с мутация на NPM1 от една времева точка и в динамичния диапазон на теста Xpert NPM1 Mutation. Събрани са данни за възраст и пол за пациентите, от които са получени пробите. Разпределението по пол е 11 мъже (27,5%) и 29 жени (72,5%). Всички проби са от пациенти на възраст между 16 и 81 години със средна възраст 59,7 години.

Всички 40 проби дават валидни резултати от тестовете. Тридесет и шест от 40-те проби дават резултати в рамките на количествените граници на двата теста. Четири проби са изключени от регресията на Деминг, тъй като пробите са отрицателни с Xpert NPM1 Mutation и/или сравнителния тест. Допълнителна проба е изключена поради голямо отклонение. Общо 35 проби са включени в регресионния анализ на Деминг.

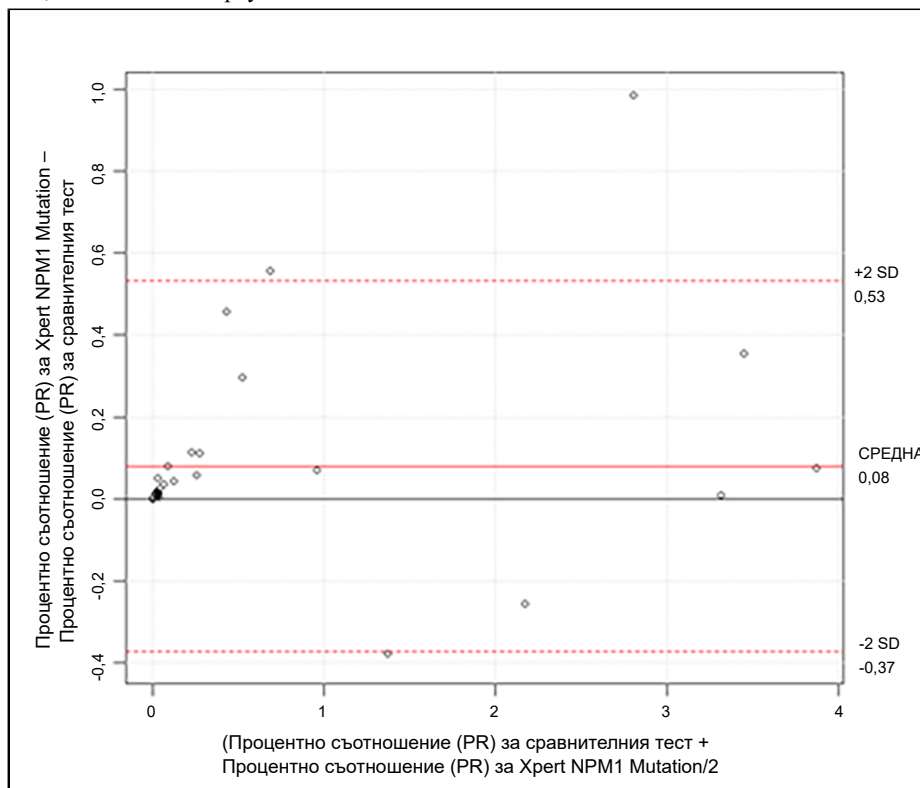
Ефективността на теста Xpert NPM1 Mutation спрямо сравнителния анализ е оценена с помощта на регресия на Деминг за определяне на наклона и прихващането. Фигура 12 представя резултатите от регресионния анализ на Деминг, включително наклона, прихващането и линията на идентичност на 35-те проби. 95% доверителни граници са изчислени с помощта на метода на ножа и се показва коефициентът на корелация на Пийърсън.



Фигура 12. Регресия на Деминг за процентно съотношение

Наклонът и прихващането за процентното съотношение от регресионния анализ на Деминг са съответно 1,06 и 0,05, а корелацията на Пийърсън е 0,981 между измерванията на теста Xpert NPM1 Mutation и сравнителния тест.

Анализ на Бланд-Алтман за разлика в процентното съотношение е оценен за 35 проби с количествени резултати, които са в линейния диапазон на Xpert NPM1 Mutation и сравнителния тест. Фигура 13 показва графика на Бланд-Алтман с разликата в процентното съотношение между двата теста спрямо резултатите от средното процентно съотношение за всяка проба. Графиката също така показва горното и долното две стандартни отклонения (2SD) на средната разлика, наблюдавана в проучването.



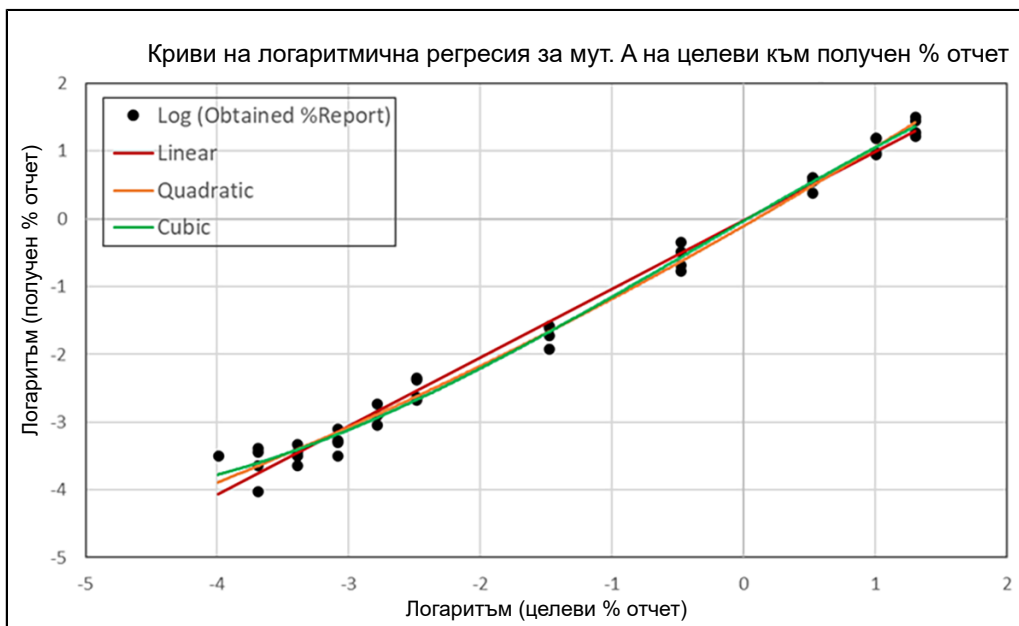
**Фигура 13. График на Бланд-Алтман за процентно съотношение на теста Xpert NPM1 Mutation и сравнителния тест**

Средната разлика е 0,08 в процентно съотношение между резултата от Xpert NPM1 Mutation и сравнителния тест. По-голямата част (91,4%, 32/35) от резултатите са в рамките на 2SD на средната разлика.

## 22 Аналитични данни

### 22.1 Линейност/динамичен диапазон

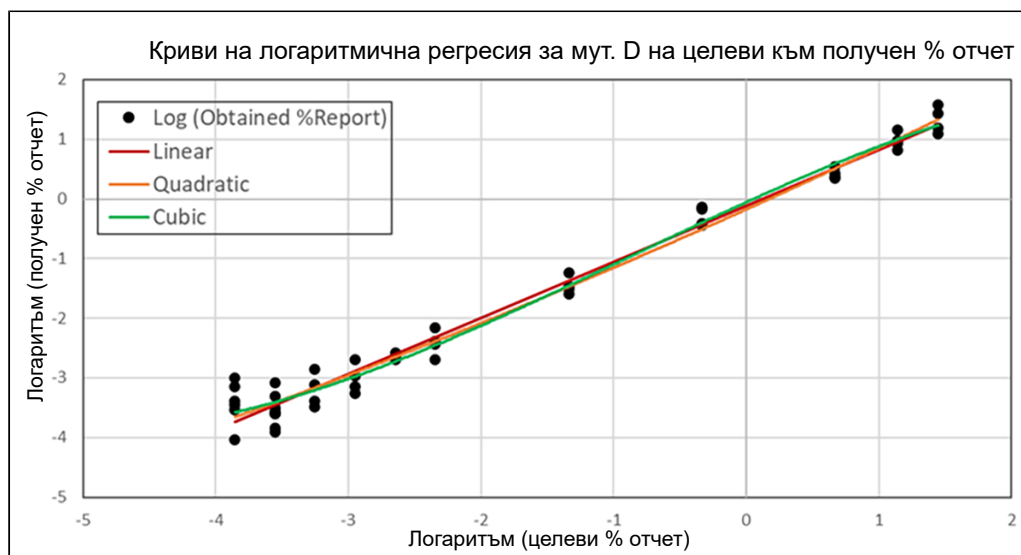
Линейността се определя за всеки от трите мутантни за NPM1 подтипа, мут. А, мут. В и мут. D, като се използват клетъчни лизати, които съдържат високи нива на всеки подтип транскрипт. Такива лизати се разреждат във фонов лизат, приготвен от вероятно отрицателни донори на мутация на NPM1 до целеви диапазони от ~0,01 – 2500% мутация на NPM1/ABL. Всички нива са тествани с една партида реагенти в четири екземпляра. Тестването и статистическите анализи са проведени в съответствие с EP06-A на CLSI<sup>9</sup>. Кривите на регресия за всеки подтип са показани на Фигура 14, Фигура 15 и Фигура 16. Линейният диапазон на всеки подтип и коефициентите на техния линеен модел са обобщени в Таблица 4.



Фигура 14. Криви на регресия за мут. А



Фигура 15. Криви на регресия за мут. В



Фигура 16. Криви на регресия за мут. D

Таблица 4. Обобщение на линейните диапазони и коефициентите на линейния модел

Подтип	Линеен диапазон	Прихващане	Наклон	R <sup>2</sup>
Мут. А	0,010 – 2020%	-0,0223	1,0134	0,989
Мут. В	0,010 – 2673%	-0,0061	1,0174	0,978
Мут. D	0,014 – 2783%	-0,1163	0,9389	0,981

Като цяло тестът Xpert NPM1 Mutation демонстрира линейност в рамките на 0,014 – 2020% мутация на NPM1/ABL. Ограничен от LoQ и горната граница на софтуера, динамичният диапазон за отчитане е 0,030 – 500%.

## 22.2 Аналитична чувствителност (граница на откриване, граница на количествено определяне, граница на празна проба)

Границата на откриване (LoD) е най-ниското ниво на мутация на NPM1/ABL, при което 95% от пробите се отчитат последователно като „**ОТКРИТА мутация на NPM1 [##,##%] (NPM1 Mutation DETECTED [##,##%])**“.  
LoD е определена за подтипове мут. А, мут. В и мут. D индивидуално чрез тестване на серийни разреждания на положителни за мутация на NPM1 клетъчни лизати и клинични лизати, съдържащи всеки подтип мутация. Съответните LoD са оценени и проверени в съответствие с EP17-A2 на CLSI<sup>10</sup>. Получените анализи дават LoD от 0,025% за мут. А, 0,023% за мут. В и 0,030% за мут. D (Таблица 5). Най-високата LoD сред трите подтипа при 0,030% се приема като обща LoD на теста Xpert NPM1 Mutation.

Границата на количествено определяне (LoQ) е най-ниското ниво на мутация на NPM1/ABL, над което пробите могат да бъдат количествено определени със стандартно отклонение  $\leq 0,36$  логаритмична редукция (LR) за средни LR над 3,5. В съответствие с EP17-A2<sup>10</sup> на CLSI LoQ са оценени и проверени при 0,025% за подтипа мут. А, 0,023% за подтипа мут. В и 0,030% за подтипа мут. D (Таблица 5). Най-високата LoQ сред трите подтипа при 0,030% се приема като обща LoQ на теста Xpert NPM1 Mutation.

Границата на празна проба (LoB) е най-високият резултат за мутация на NPM1/ABL, очакван сред 95% от празните проби от вероятно отрицателни донори на мутация на NPM1. В съответствие с EP17-A2 на CLSI<sup>10</sup> LoB на теста Xpert NPM1 Mutation е оценена и проверена при 0,0085% (Таблица 5).

Таблица 5. Граница на откриване, граница на количествено определяне и граница на празна проба за тест Хpert NPM1 Mutation [% мутация на NPM1/ABL]

Подтип	LoD [% мутация на NPM1/ABL]	LoQ [% мутация на NPM1/ABL]	LoB [% мутация на NPM1/ABL]
Мут. А	0,025%	0,025%	0,0085%
Мут. В	0,023%	0,023%	
Мут. D	0,030%	0,030%	

## 22.3 Аналитична специфичност

Аналитичната специфичност на теста Хpert NPM1 Mutation се определя чрез тестване на спесимени от периферна кръв, третиран с EDTA, взети от двадесет и пет здрави донора.

Не е получен резултат **ОТКРИТА мутация на NPM1 (NPM1 Mutation DETECTED)** от който и да е от вероятно отрицателните за NPM1 спесимени, оценени в това проучване. Следователно тестът Хpert NPM1 Mutation е специфичен за мутантни за NPM1 иРНК транскрипти (типове А, В и D в екзон 12), свързани с AML, и има аналитична специфичност от 100% за EDTA периферни кръвни проби.

## 22.4 Оценка на пренесено замърсяване

Проведено е проучване, за да се демонстрира, че самостоятелните касети за еднократна употреба GeneXpert предотвратяват пренасяне на замърсяване от касети, обработвани последователно в един и същ инструментален модул. Предполагаемо отрицателна за мутация на NPM1 проба е тествана след проба с високо положителна за мутация на NPM1 проба в същия модул GeneXpert. Схемата за тестване е повторена 10 пъти на два модула GeneXpert (общо 22 отрицателни и 20 положителни). Всички проведени тестове на положителната проба връщат очаквания резултат „**ОТКРИТА мутация на NPM1 [#,%] (NPM1 Mutation DETECTED [#,%])**“, а всички проведени тестове на отрицателните проби връщат очаквания резултат „**НЕ Е ОТКРИТА мутация на NPM1 [Достатъчен транскрипт на ABL] (NPM1 Mutation NOT DETECTED [Sufficient ABL transcript])**“.

## 22.5 Потенциално интерфериращи вещества

Това проучване оценява пет вещества, които може да присъстват в EDTA спесимените от периферна кръв с потенциал да повлияят на изпълнението на теста. Тестваните съединения и нива (вижте Таблица 6) се основават на указания от EP07-ED3 на CLSI<sup>11</sup>. Интерферентите са тествани в EDTA спесимени от периферна кръв, създадени с лизати от култивирани клетки, положителни за мутация на NPM1, представляващи три нива: > 1%, 0,1 – 0,5% и отрицателни. Тестовите контроли се състоят от едни и същи проби без потенциално интерфериращи вещества. Всяко ниво е тествано в отсъствието и присъствието на петте отделни интерферента при 4 репликацията на условие. Вещество се счита за неинтерфериращо, ако в негово присъствие наблюдаваното средно процентно съотношение е в рамките на 3-кратна разлика в сравнение с контролата.

Не са наблюдавани клинично значими инхибиторни ефекти върху теста Хpert NPM1 Mutation с нито едно от интерфериращите вещества, оценени в това проучване. Не са наблюдавани статистически значими разлики (р-стойност < 0,05) при всякакви тестови условия и отчетените процентни съотношения между тестовите и контролните условия са в рамките на приемливия 3-кратен диапазон.

Таблица 6. Потенциално интерфериращи вещества, тествани с Хpert NPM1 Mutation

Интерфериращи вещества	Тествана концентрация
Неконюгиран билирубин	20 mg/dl
Холестерол, общо	500 mg/dl
Триглицериди, общо (липиди)	3000 mg/dl
Хепарин	3500 U/l

<b>Интерфериращи вещества</b>	<b>Тествана концентрация</b>
EDTA (кратко извличане)	930 mg/dl

## 23 Възпроизводимост и прецизност

Проучването е разработено в съответствие с общите принципи, поддържани в стандарта EP05-A3 на CLSI за многофакторни проучвания. Проведено е в три центъра. Дизайнът на проучването включва елементи на панела с проби, които включват мутации А, В и D при две концентрации. Седем елемента на панела са тествани в два екземпляра, по два проведени теста на ден, за общо 6 дни от всеки от двамата оператори в трите различни центъра (3 центъра × 2 оператори × 3 партиди × 2 дни × 2 проведени теста × 2 репликата = 144 резултата от теста/елемент на панела). Панелите за възпроизводимост и прецизност са подготвени от Cepheid и се състоят от седем елемента на панела, както е показано в Таблица 7. Панелите са създадени в симулирана EDTA матрица от периферна кръвна (PB).

**Таблица 7. Панели за възпроизводимост и прецизност**

Елемент на панела	Цел	Процентно съотношение (PR) на ниво
1	Отрицателен	Неприложимо (NA)
2	Мутация А на NPM1	Умерено положителна (~5%)
3	Мутация А на NPM1	Ниско положителна (~0,2%)
4	Мутация В на NPM1	Умерено положителна (~5%)
5	Мутация В на NPM1	Ниско положителна (~0,2%)
6	Мутация D на NPM1	Умерено положителна (~5%)
7	Мутация D на NPM1	Ниско положителна (~0,2%)

Броят на пробите с валидни резултати за всеки елемент на панела, анализирани от всеки от двамата оператори в трите центъра, е показан в Таблица 8.

**Таблица 8. Възпроизводимост и прецизност: Брой проби с валидни резултати**

Елемент на панела	Център 1			Център 2			Център 3			Общо проби
	Оп. 1	Оп. 2	Център	Оп. 1	Оп. 2	Център	Оп. 1	Оп. 2	Център	
1 Отрицателен	24/24 <sup>a</sup>	(24/24)	(48/48) <sup>a</sup>	(24/24) <sup>b</sup>	(24/24)	(48/48) <sup>b</sup>	(24/24)	(24/24)	(48/48)	(144/144)
2 LR 1,3: мут. А (съотношение ~5%)	(24/24)	(24/24)	(48/48)	(24/24)	(24/24)	(48/48)	(24/24)	(24/24)	(48/48)	(144/144)
3 LR 2,7: мут. А (съотношение ~0,2%)	(24/24)	(24/24)	(48/48)	(24/24)	(24/24)	(48/48)	(24/24)	(24/24)	(48/48)	(144/144)
4 LR 1,3: мут. В (съотношение ~5%)	(24/24)	(24/24)	(48/48)	(24/24)	(24/24)	(48/48)	(24/24)	(24/24)	(48/48)	(144/144)
5 LR 2,7: мут. В (съотношение ~0,2%)	(24/24)	(24/24)	(48/48)	(24/24)	(24/24)	(48/48)	(24/24)	(24/24)	(48/48)	(144/144)
6 LR 1,3: мут. D (съотношение ~5%)	(24/24)	(24/24)	(48/48)	(24/24)	(24/24)	(48/48)	(24/24)	(24/24)	(48/48)	(144/144)



Елемент на панела		Център 1			Център 2			Център 3			Общо проби
		Оп. 1	Оп. 2	Център	Оп. 1	Оп. 2	Център	Оп. 1	Оп. 2	Център	
7	LR 2,7: мут. D (съотношение ~0,2%)	(24/24)	(24/24)	(48/48)	(24/24) <sup>c</sup>	(24/24)	(48/48) <sup>c</sup>	(24/24)	(24/24)	(48/48)	(144/144)

- a Два отрицателни спесимена имат валидни, но открити резултати (FP)  
b Един отрицателен спесимен има валиден, но открит резултат (FP)  
c Един спесимен LR 2,7: мут. D (съотношение ~0,2%) има валиден, но не открит резултат (FN)

Количествените резултати са анализирани чрез вмесен дисперсионен анализ (ANOVA) със случайни ефекти и коефициент на вариация (CV). Резултатите от изчисленията на ANOVA за стандартното отклонение и дисперсията за всяка положителна проба са предоставени в Таблица 9. Дисперсията и процентът от общата дисперсия, внесена от всеки компонент (център/инструмент, оператор, партида, ден, проведен тест) се посочват като SD и процент принос на всеки компонент.

**Таблица 9. Резултати от коефициент на вариация (CV): Процентно съотношение (PR)**

Елемент на панела	N	Средна	Център		Оп.		Партида		Ден		Цикъл		В рамките на анализа		Общо	
			SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)
LR 1,3: мут. А (съотношение ~5%)	144	4,3%	0,00	6,14	0,00	0,00	0,00	4,29	0,00	8,91	0,00	4,36	0,01	17,83	0,01	21,74
LR 2,7: мут. А (съотношение ~0.2%)	144	0,2%	0,00	0,00	0,00	12,43	0,00	0,00	0,00	23,71	0,00	0,00	0,00	74,56	0,00	79,22
LR 1,3: мут. В (съотношение ~5%)	144	5%	0,00	8,24	0,00	0,00	0,01	11,50	0,00	7,19	0,00	0,00	0,01	20,88	0,01	26,23
LR 2,7: мут. В (съотношение ~0.2%)	144	0,2%	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	7,48	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	19,28	0,00	20,68
LR 1,3: мут. D (съотношение ~5%)	144	4,2%	0,00	5,15	0,00	0,00	0,01	12,91	0,00	8,78	0,00	0,00	0,01	18,30	0,01	24,60
LR 2,7: мут. D (съотношение ~0.2%)	143 <sup>a</sup>	0,2%	0,00	10,86	0,00	0,00	0,00	12,91	0,00	6,77	0,00	0,00	0,00	22,83	0,00	29,18

- a Една проба не е открита от Хpert NPM1 и е изключена от анализа, тъй като няма количествено измерване.

Общият процентен коефициент на вариация (CV) на процентното съотношение, отчитащо количествените стойности за умерено положителните проби LR 1,3: мут. А, мут. В и мут. D (съотношение ~5%), варира от 21,74 до 26,23, а за ниско положителните проби LR 2,7: мут. А, мут. В и мут. D (съотношение ~0,2%) варира от 20,68 до 79,22.

## 24 Библиография

1. Saultz JN, Garzon R. Acute myeloid leukemia: A concise review. *J Clin Med*. 2016; 5(3). doi:10.3390/jcm5030033
2. Döhner H, Weisdorf DJ, Bloomfield CD. Acute Myeloid Leukemia. *N Engl J Med*. 2015; 373(12): 1136-1152. doi:10.1056/NEJMra1406184
3. Diagnostic Molecular Pathology. A Guide to Applied Molecular Testing. <https://www.medic4arab.com/2017/01/diagnostic-molecular-pathology-guide-to.html>. Достъп: 16 септември 2020 г.
4. Kunchala P, Kuravi S, Jensen R, McGuirk J, Balusu R. When the good go bad: Mutant NPM1 in acute myeloid leukemia. *Blood Rev*. 2018; 32(3): 167-183. doi:10.1016/j.blre.2017.11.001
5. Heath EM, Chan SM, Minden MD, Murphy T, Shlush LI, Schimmer AD. Biological and clinical consequences of NPM1 mutations in AML. *Leukemia*. 2017; 31(4): 798-807. doi:10.1038/leu.2017.30
6. Centers for Disease Control and Prevention. Biosafety in Microbiological and Biomedical laboratories (вижте последното издание). <http://www.cdc.gov/biosafety/publications/>
7. Clinical and Laboratory Standards Institute. Protection of Laboratory Workers from Occupationally Acquired Infections; Approved Guideline. Document M29 (вижте последното издание).
8. Health-care Waste. World Health Organization. <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/health-care-waste>
9. CLSI EP06-A:2003 Evaluation of the Linearity of Quantitative Measurement Procedures: A Statistical Approach, 1st Edition
10. CLSI EP17-A2:2012 Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures, 2nd Edition
11. CLSI EP07-ED3:2018 Interference Testing in Clinical Chemistry, 3rd Edition
12. CLSI EP05-A3:2014 Evaluation of Precision of Quantitative Measurement Procedures; Approved Guideline—Third Edition

## 25 Местонахождение на седалищата на Cepheid

### Корпоративно седалище

Cepheid  
904 Caribbean Drive  
Sunnyvale, CA 94089  
USA

Телефон: + 1 408 541 4191  
Факс: + 1 408 541 4192  
www.cepheid.com

### Европейско седалище

Cepheid Europe SAS  
Vira Solelh  
81470 Maurens-Scopont  
France

Телефон: + 33 563 825 300  
Факс: + 33 563 825 301  
www.cepheidinternational.com

## 26 Техническа помощ

Преди да се свържете с отдел Техническа поддръжка на Cepheid, съберете следната информация:

- Наименование на продукта
- Партиден номер
- Сериен номер на инструмента
- Съобщения за грешки (ако има)
- Версия на софтуера и, ако е приложимо, сервизен номер на компютъра

### Съединените щати














Телефон: + 1 888 838 3222 Електронна поща:  
techsupport@cepheid.com

### Франция

Телефон: + 33 563 825 319 Електронна поща:  
support@cepheideurope.com

Информация за контакт с всички отдели за техническа поддръжка на Cepheid е на разположение на нашата уебстраница: [www.cepheid.com/en/support/contact-us](http://www.cepheid.com/en/support/contact-us).

## 27 Таблица на символите

Символ	Значение
	Каталожен номер
	СЕ маркировка – Европейско съответствие
	<i>Ин vitro</i> диагностично медицинско изделие
	Партиден код
	Репродуктивна и органна токсичност
	Консултирайте се с инструкциите за употреба
	Производител
	Държава на производство
	Съдържа достатъчно количество за <i>n</i> изследвания
	Контрол
	Дата на изтичане на срока на годност
	Предупреждение
	Биологични рискове
	Внимание
	Запалими течности
	Репродуктивна и органна токсичност
	Предупреждение
	Упълномощен представител в Европейската Общност
	Упълномощен представител в Швейцария
	Вносител



Cepheid  
904 Caribbean Drive  
Sunnyvale, CA 94089  
САЩ  
Телефон: + 1 408 541 4191  
Факс: : + 1 408 541 4192



Cepheid Europe SAS  
Vira Solelh  
81470 Maurens-Scopont  
Франция  
Телефон: + 33 563 825 300  
Факс: : + 33 563 825 301



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



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



## 28 История на ревизиите

Раздел	Описание на промяната
23	Коригирана грешка в раздел „Възпроизводимост и прецизност“.