

Xpert[®] NPM1 Mutation

REF GXNPM1-CE-10

Návod k použití

IVD CE

Prohlášení o ochranných známkách, patentech a autorských právech

Trademark, Patents, and Copyright Statements

Cepheid[®], the Cepheid logo, GeneXpert[®], and Xpert[®] are trademarks of Cepheid, registered in the U.S. and other countries. All other trademarks are the property of their respective owners.

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

© 2022–2023 Cepheid.

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

Cepheid[®], logo Cepheid, GeneXpert[®] a Xpert[®] jsou ochranné známky společnosti Cepheid registrované v USA a dalších zemích.

Všechny ostatní ochranné známky jsou majetkem jejich příslušných vlastníků.

NÁKUPEM TOHOTO PRODUKTU SE NA KUPUJÍCÍHO PŘEVÁDÍ NEPŘEVODITELNÉ PRÁVO PRODUKT POUŽÍVAT V SOULADU S TÍMTO NÁVODEM K POUŽITÍ. NEPŘEVÁDÍ SE ŽÁDNÁ DALŠÍ PRÁVA, A TO VÝSLOVNĚ, NEPŘÍMO ANI PODLE ZÁSADY ESTOPPEL. DÁLE SE S PRODEJEM TOHOTO PRODUKTU NEPŘEVÁDÍ ŽÁDNÁ PRÁVA NA OPAKOVANÝ PRODEJ.

© 2022–2023 Cepheid.

Popis změn viz Část 28, Historie revizí.

Xpert[®] NPM1 Mutation

Pro diagnostické použití *in vitro*.

1 Vlastnický název

Xpert[®] NPM1 Mutation

2 Běžný nebo obvyklý název

Xpert NPM1 Mutation

3 Účel použití

3.1 Určené použití

Test Xpert NPM1 Mutation prováděný na přístroji Cepheid GeneXpert[®] Dx System je test pro diagnostiku *in vitro* pro kvantifikaci mutantních transkriptů NPM1 mRNA (typy A, B a D v exonu 12) ve vzorcích periferní krve pacientů s akutní myeloidní leukémií (AML). Test používá technologii polymerázové řetězové reakce s reverzní transkripcí v reálném čase (RT-PCR) a hlásí procentuální poměr mutantních transkriptů NPM1 a endogenních kontrolních transkriptů ABL1 mRNA. Test je určen jako pomůcka při sledování hladiny transkriptu mutované NPM1 mRNA u pacientů s AML s mutací NPM1. Test by měl být používán ve spojení s dalšími klinicko-patologickými faktory.

Test Xpert NPM1 Mutation nerozlišuje mezi mutantními transkripty NPM1 typu A, B nebo D a nedetekuje ani nesleduje jiné vzácné typy mutantních NPM1. Tento test není určen k diagnostice AML.

3.2 Zamýšlený uživatel/prostředí

Test Xpert NPM1 Mutation je určen k použití vyškolenými uživateli v laboratorním prostředí.

4 Souhrn a vysvětlení

Akutní myeloidní leukémie (AML) je nádorové onemocnění myeloidních kmenových buněk krvetvorby v kostní dřeni^{1,2} u kterého jsou známy různé mutace exonu 12 nukleofosminu (NPM1)³. Inzerce nukleotidů v exonu 12 má za následek posunovou mutaci a vytváří jaderný exportní signál (NES). Mutace v genu NPM1 vedou k aberantní cytoplazmatické lokalizaci NPM1 a proteinů interagujících s NPM1. NPM1 je jedním z nejvíce mutovaných genů u AML a mutace se vyskytují u 28 % až 35 % všech případů AML. V současné době se zkoumá několik léků zaměřených na mutovaný NPM1, ale zatím není k dispozici žádná cílená léčba schválená FDA.⁴

Gen NPM1 kóduje jaderný „kyvadlový“ protein, který hraje roli v biologii centrozomů a ribozomů a také v regulaci dalších buněčných systémů, včetně nádorových supresorových drah. NPM1 je nukleolární fosfoprotein, který slouží jako „kyvadlová“ doprava mezi jádrem a cytoplazmou. Reguluje transport ribozomálních částic přes jadernou membránu. Mutace NPM1 byly poprvé objeveny u jedinců s AML po pozorování abnormální cytoplazmatické lokalizace namísto normální jaderné lokalizace. Genetické hodnocení leukemických blastů v kombinaci s cytoplazmatickou lokalizací NPM1 vedlo k poznání známých posunových mutací exonu 12.³ Nejčastějšími mutacemi NPM1 jsou typ A (~75-80 %), typ B (~10 %) a typ D (~5 %), všechny v exonu 12, což vede k posunové mutaci v zložení čtyř nukleotidů. Mutace u pacientů s AML způsobuje ztrátu signálu nukleolární lokalizace a aberantní cytoplazmatickou lokalizaci proteinu.⁵

5 Princip postupu

Test Xpert NPM1 Mutation je automatizovaný test pro kvantifikaci množství transkriptů s mutací NPM1 jako poměr mutace NPM1 /ABL1. Test se provádí na systému Cepheid GeneXpert Dx System, který automatizuje a integruje purifikaci vzorků, amplifikaci nukleových kyselin a detekci cílových sekvencí v jednoduchých nebo komplexních vzorcích RT-PCR v reálném čase a nested PCR testech. Systém sestává z přístroje, počítače a předem načteného softwaru pro zpracování testů a zobrazení výsledků. Systém vyžaduje použití jednorázových kazet GeneXpert, které obsahují reagenty RT-PCR a reagenty nested PCR a ve kterých probíhají procesy RT-PCR a nested PCR. Úplný popis systému viz příslušný dokument *GeneXpert Dx System Operator Manual*.

Test Xpert NPM1 Mutation obsahuje reagenty pro detekci mutace NPM1 a transkriptu ABL1 jako endogenní kontroly ve vzorcích periferní krve. Množství transkriptu s mutací NPM1 je kvantifikováno jako procentuální poměr mutace NPM1/ABL1. Test Xpert NPM1 Mutation obsahuje dvě kontroly – endogenní kontrolu (ABL1) a systém kontroly sondy (PCC). Endogenní kontrola ABL1 normalizuje cílovou mutaci NPM1 a zjišťuje, zda je v testu použito dostatečné množství vzorku. PCC ověřuje rehydrataci reagenty, plnění zkumavky s PCR a zda jsou v kazetě přítomny všechny reakční složky, včetně sond a barviv, a zda jsou funkční.

6 Reagenty a přístroje

6.1 Dodané materiály

Souprava Xpert NPM1 Mutation (GXNPM1-CE-10) obsahuje dostatečné množství reagentů pro zpracování 10 vzorků testu nebo vzorků pro kontrolu kvality. Obsah soupravy:

Xpert NPM1 Mutation Reagenty

10 od každého na soupravu

Proteináza K (PK)	10 x 130 µl v každé lahvičce
Složka	Ingrediencie reagenty
Proteináza K	<5 %
Reagenty lýzy (LY) (guanidinchlorid)	10 x 5,3 ml v každé lahvičce
Složka	Ingrediencie reagenty
Guanidinchlorid	25–50 %
Močovina	25–50 %
Dodecylsírán sodný	<2 %
Promývací reagenty	10 x 2,9 ml v každé ampulce
Složka	Ingrediencie reagenty
Etanol	<50 %
Guanidin thiokyanát	<50 %

Xpert NPM1 Mutation Kazety s integrovanými reakčními zkumavkami		10 v každé soupravě
Složka	Ingredience reagentie	Množství
Perlička 1 (sušená mrazem)	Enzym: Taq DNA-polymeráza < 50 U/ perlička	1 v každé kazetě
	dNTP <0,05 %	
Perlička 2 (sušená mrazem)	Primery a sondy <0,005 %	1 v každé kazetě
Perlička 3 (sušená mrazem)	Primery a sondy <0,005 %	1 v každé kazetě
Perlička 4 (sušená mrazem)	Enzym: Taq DNA-polymeráza < 50 U/ perlička	1 v každé kazetě
	dNTP <0,05 %	
Proplachovací reagentie	Chlorid draselný <4 %	2 ml v každé kazetě
	Azid sodný <0,1 %	
	Polyethylenglykol <40 %	
	Tween 20 <0,2 %	
Eluční reagentie	Báze Trizma <0,3 %	2,5 ml v každé kazetě
	Trizma hydrochlorid <0,1 %	
	Azid sodný <0,05 %	

CD**1 v každé soupravě**

- Soubor definice analýzy (ADF)
- Pokyn k importu souboru ADF do softwaru GeneXpert
- Návod k použití (IFU)

Poznámka

Hovězí sérový albumin (BSA) v perličkách v tomto produktu byl vyroben výhradně z hovězí plazmy pocházející ze Spojených států amerických. Zvířata nebyla krmena bílkovinami pocházejícími z přežvýkavců či jiných zvířat; zvířata prošla testy ante-mortem i post-mortem. V průběhu zpracování nedocházelo k žádnému směšování materiálů s jinými zvířecími materiály.

Poznámka

Osvědčení o analýze a datové listy specifikace šarží jsou k dispozici u technické podpory společnosti Cepheid.

7 Požadované materiály, které nejsou součástí dodávky

- GeneXpert Dx System (katalogové číslo se liší podle konfigurace): přístroj GeneXpert, počítač, čtečka čárových kódů a návod k obsluze.
- Pro GeneXpert Dx System: GeneXpert Dx software verze 6.2 nebo vyšší.
- Tiskárna: Pokud požadujete tiskárnu, kontaktujte technickou podporu společnosti Cepheid a sjednejte si nákup doporučené tiskárny.
- Vortexová míchačka
- Mikrocentrifuga (minimálně 1 000 x g)
- Pipety a pipetovací špičky s filtrem proti aerosolu
- Kónické zkumavky 50 ml
- Absolutní ethanol reagenční třídy
- 1X PBS, pH 7,4

8 Skladování a manipulace

- Obsah soupravy testu Xpert NPM1 Mutation skladujte při teplotě 2 °C až 8 °C až do data expirace uvedeného na štítku.
- Víko kazety neotevírejte, pokud nejste připraveni k provedení testu.
- Nepoužívejte kazety s prošlým datem expirace.
- Nepoužívejte kazetu, která vytekla.
- Promývací reagenzie je čirá, bezbarvá kapalina. Nepoužívejte promývací reagenzii, pokud se zakalila nebo změnila barvu.
- Dvacet (20) minut před zahájením postupu vyjměte z chlazeného skladovacího prostoru vzorky krve, kazetu a reagenzie na přípravu vzorků a vytemperujte je na pokojovou teplotu (20°C až 30 °C).

9 Varování a bezpečnostní upozornění

9.1 Obecně

- Pro diagnostické použití *in vitro*.
- Se všemi biologickými vzorky, včetně použitých kazet a reagenzií, zacházejte jako s potenciálně schopnými přenosu infekčních agens. Protože často není možné vědět, které vzorky mohou být infekční, se všemi biologickými vzorky je třeba zacházet se standardními bezpečnostními opatřeními.
- Pokyny pro manipulaci se vzorky jsou k dispozici od center pro kontrolu a prevenci onemocnění v USA⁶ (U.S. Centers for Disease Control and Prevention) a od Institutu pro klinické a laboratorní standardy (Clinical and Laboratory Standards Institute).⁷
- Při práci s chemikáliemi a manipulaci s biologickými vzorky dodržujte bezpečnostní postupy vašeho zařízení.
- Charakteristiky účinnosti tohoto testu byly stanoveny pouze za použití krve odebrané do zkumavek s EDTA. Funkce testu nebyla hodnocena s jinými typy vzorků.
- Spolehlivé výsledky závisí na adekvátním odběru, přepravě, skladování a zpracování vzorků. Při nesprávném odběru, manipulaci nebo skladování vzorků, při technické chybě, při záměně vzorků, nebo pokud je cílový transkript ve vzorku nižší než limit detekce (LoD) testu, může dojít k nesprávným výsledkům testu. Aby se zabránilo chybným výsledkům, je nutné pečlivě dodržovat návod k použití a *GeneXpert Dx System Operator Manual*.
- Provádění testu Xpert NPM1 Mutation mimo doporučené teplotní rozsahy při uskladnění a časy může vést k chybným nebo neplatným výsledkům.
- Biologické vzorky, přenosové prostředky a použité kazety je nutné považovat za schopné přenosu infekčních agens a vyžadující standardní bezpečnostní opatření. Při správné likvidaci použitých kazet a nepoužitých reagenzií dodržujte postupy vašeho zdravotnického zařízení pro ekologickou likvidaci odpadu. Tyto materiály mohou vykazovat charakteristiky chemického nebo bezpečného odpadu vyžadujícího dodržování specifických národních nebo regionálních postupů pro likvidaci. Pokud národní nebo regionální předpisy neobsahují jasné pokyny ke správné likvidaci, biologické vzorky a použité kazety je třeba likvidovat podle pokynů Světové zdravotnické organizace (World Health Organization, WHO) k manipulaci se zdravotnickým odpadem a k jeho likvidaci.⁸

9.2 Vzorek

- Dodržujte správné podmínky skladování, aby byla zajištěna neporušenost vzorku (viz Část 11, Odběr a skladování vzorků). Stabilita vzorku za jiných než doporučených přepravních podmínek nebyla hodnocena.
- Vzorek periferní krve s EDTA nezmrazujte.
- Správný odběr, skladování a přeprava vzorků jsou nezbytné k získání správných výsledků.

9.3 Test/reagenzie


- Nenahrazujte reagenzie Xpert NPM1 Mutation jinými reagenziemi.
- Neotevírejte víko kazety Xpert NPM1 Mutation s výjimkou případů, kdy přidáváte vzorek a promývací reagenzii.
- Nepoužívejte kazetu, která po vyjmutí z obalu upadla.
- S kazetou neřepejte. Zatřesení nebo upuštění kazety po otevření víka kazety může způsobit neplatné výsledky.
- Štítek s ID vzorku neumísťujte na víko kazety ani na čárový kód kazety.
- Nepoužívejte kazetu s poškozeným štítkem s čárovým kódem.
- Nepoužívejte kazetu s poškozenou reakční zkumavkou.

- Doporučuje se, aby kazety Xpert NPM1 Mutation měly při testování pokojovou teplotu (20 °C až 30 °C).
- Každá jednorázová kazeta testu Xpert NPM1 Mutation se používá ke zpracování jednoho testu. Zpracované kazety nepoužívejte opakovaně.
- Přeneste celý obsah jedné (1) ampule promývací reagentie do komory pro promývací reagentii. Chybějící přidání promývací reagentie by mohlo způsobit falešný výsledek **NEDETEKOVÁNO** (NOT DETECTED).
- Pipetovací špičky nepoužívejte opakovaně.
- Nepoužívejte kazetu, pokud se zdá být vlhká nebo pokud se zdá, že je porušené těsnění víka.
- Nepoužívejte kazetu Xpert NPM1 Mutation, pokud je reagentie přidána do nesprávného otvoru.
- Neotevírejte kazety Xpert NPM1 Mutation po dokončení testu.
- Vyhradte sadu pipet a reagentií výhradně pro přípravu vzorků.
- Noste čistý laboratorní plášť a rukavice. Mezi manipulacemi s jednotlivými vzorky si vždy vyměňte rukavice.
- V případě rozlití vzorků nebo kontrol si nasadte rukavice a vysajte uniklý materiál papírovými utěrkami. Poté pečlivě vyčistěte kontaminovanou plochu 1:10 roztokem čerstvě připraveného chlorového bělicího prostředku pro domácnost. Konečná koncentrace aktivního chloru by měla být 0,5 % bez ohledu na koncentraci bělicího prostředku pro domácnost ve vaší zemi. Nechejte prostředek působit dvě minuty.
- Dříve, než odstraníte zbytky bělicího prostředku 70% denaturovaným alkoholem, zkontrolujte, zda je pracovní plocha suchá. Než budete pokračovat, nechejte zcela uschnout pracovní povrch. Případně postupujte podle standardních postupů vašeho zdravotnického zařízení pro příhodu kontaminace nebo úniku. U vybavení postupujte při dekontaminaci podle doporučení výrobců.

10 Chemická nebezpečí

Poznámka

Informace níže se vztahují na celý produkt obsahující reagentie proteinkinázy K, lyzační, promývací a proplachovací reagentie.

- Piktogram pro nebezpečí podle CLP/GHS: 
- Signální slovo: NEBEZPEČÍ
- **Věty o nebezpečnosti podle Globálně harmonizovaného systému klasifikace OSN**
 - Vysoce hořlavá kapalina a páry H225.
 - Dráždí kůži H315.
 - Způsobuje vážné podráždění očí H319.
 - Může způsobit ospalost nebo závrať H336.
 - Podezření na genetické poškození H341.
- **Pokyny pro bezpečné zacházení podle Globálně harmonizovaného systému klasifikace OSN**
 - **Prevence**
 - Před použitím si prostudujte zvláštní pokyny v bezpečnostním listu.
 - Před použitím si obzarejte speciální instrukce.
 - Nepoužívejte, dokud jste si nepřčetli všechny bezpečnostní pokyny a neporozuměli jim.
 - Chraňte před teplem, jiskrami, otevřeným ohněm a horkými povrchy. Zákaz kouření.
 - Uchovávejte obal těsně uzavřený.
 - Zabraňte vdechování mlhy/par/aerosolů.
 - Po manipulaci důkladně omyjte.
 - Používejte pouze venku nebo v dobře větraných prostorách.
 - Používejte ochranné rukavice/ochranný oděv/ochranné brýle/obličejový štít.
 - Používejte požadované osobní ochranné prostředky.
 - **Reakce**
 - V případě POŽÁRU: K hašení použijte vhodná média.
 - PŘI VDECHNUTÍ: Přeneste postiženého na čerstvý vzduch a ponechte jej v klidu v poloze usnadňující dýchání.
 - Necítíte-li se dobře, volejte TOXIKOLOGICKÉ INFORMAČNÍ STŘEDISKO nebo lékaře.
 - PŘI STYKU S KŮŽÍ (nebo s vlasy): Veškeré kontaminované části oděvu okamžitě svlékněte. Opláchněte kůži vodou/osprchujte.
 - Konkrétní pokyny pro ošetření najdete v doplňkových informacích o první pomoci.
 - Kontaminovaný oděv svlékněte a před opětovným použitím ho vyperte.
 - Při podráždění kůže: Vyhledejte lékařskou pomoc/ošetření.

- **PŘI ZASAŽENÍ OČÍ:** Několik minut opatrně oplachujte vodou. Vyjměte kontaktní čočky, jsou-li nasazeny, a pokud je lze vyjmout snadno. Pokračujte ve vyplachování.
- **Přetrvává-li podráždění očí:** Vyhledejte lékařskou pomoc/ošetření.
- **Při expozici nebo podezření na ni:** Vyhledejte lékařskou pomoc/ošetření.
- **Skladování/likvidace**
 - Uchovávejte v chladu.
 - Skladujte na dobře větraném místě.
 - Uchovávejte obal těsně uzavřený.
 - Skladujte uzamčené.
 - Obsah a/nebo nádobu zlikvidujte v souladu s místními, regionálními, národními a/nebo mezinárodními předpisy.

11 Odběr a skladování vzorků

- Vzorky periferní krve se musí odebírat do zkumavek s EDTA dle směrnic zdravotnického zařízení. Plazma se nemá oddělovat od buněk.
- Vzorky by měly být před testováním skladovány při teplotě 2 °C až 8 °C po dobu nejvýše 3 dnů (72 hodin).
- Správný odběr a skladování vzorků jsou pro správnou funkci testu rozhodující. Stabilita vzorku za jiných skladovacích podmínek než jsou uvedeny v Část 12, Postupu níže nebyla s testem Xpert NPM1 Mutation hodnocena.

12 Postup

12.1 Než začnete

Dvacet (20) minut před zahájením postupu vyjměte z chlazeného skladovacího prostoru vzorky krve, reagentie na přípravu vzorků a kazety a vytemperujte je na pokojovou teplotu. Krátce odstředte proteinkinázu K (PK) v mikrocentrifuze.

Důležité Spusťte test do 1 hodiny od přidání vzorku ošetřeného vzorkovou reagentií do kazety.

Důležité Než začnete připravovat vzorek, vyjměte kazetu z kartónového obalu. (Viz Část 12.3, Příprava kazety).

12.2 Příprava vzorku

12.2.1 Příprava vzorku s neznámým počtem leukocytů nebo vzorků s méně než 30 milióny leukocytů/ml

1. Na dno nové označené 50ml kónické zkumavky přidejte 100 µl proteinkinázy K (PK).
2. Těsně před pipetováním zajistěte řádné promíchání vzorku krve tak, že odběrovou zkumavku na krev 8krát obrátíte. Krevní odběrové zkumavky EDTA viz pokyny výrobce.
3. Do zkumavky, která již obsahuje PK, přidejte 4 ml vzorku krve.
4. Promíchejte vzorek ve vortexové míchačce nastavené na maximální výkon, a to nepřetržitě po dobu 3 vteřin.
5. Inkubujte při pokojové teplotě po dobu 1 minuty.
6. Do stejné zkumavky přidejte 2,5 ml lyzační reagentie (LY).

Poznámka Zbylou lyzační reagentii uchovejte pro další použití v kroku 13.

7. Promíchejte vzorek ve vortexové míchačce nastavené na maximální výkon, a to nepřetržitě po dobu 10 vteřin.
8. Inkubujte při pokojové teplotě po dobu 5 minut.
9. Promíchejte vzorek ve vortexové míchačce nastavené na maximální výkon, a to nepřetržitě po dobu 10 vteřin.
10. Inkubujte při pokojové teplotě po dobu 5 minut.
11. Promíchejte vzorek tak, že 10krát klepnete na dno zkumavky.
12. Přeneste 1 ml připraveného lyzátu do nové označené 50ml kónické zkumavky.

Poznámka Zbývající lyzát může být uložen až 48 hodin při teplotě 2 °C až 8 °C, nebo až 1 měsíc při teplotě nejméně -20 °C.

13. Do nové kónické zkumavky obsahující lyzát přidejte 1,5 ml zbylé LY z kroku 6.

14. Promíchejte vzorek ve vortexové míchačce nastavené na maximální výkon, a to nepřetržitě po dobu 10 vteřin.
15. Inkubujte při pokojové teplotě po dobu 10 minut.
16. Do stejné kónické zkumavky přidejte 2 ml absolutního ethanolu reagenční třídy (dodá uživatel).
17. Promíchejte vzorek ve vortexové míchačce nastavené na maximální výkon, a to nepřetržitě po dobu 10 vteřin. Postavte stranou.
18. Zbylé reagentie PK nebo LY zlikvidujte.

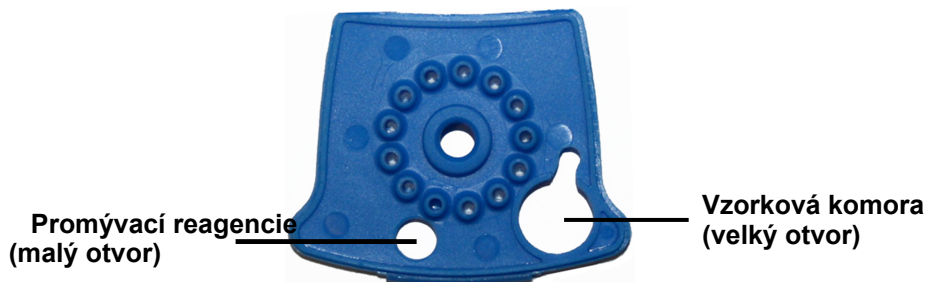
12.2.2 Příprava vzorku s počtem WBC rovným nebo větším než 30 milionů WBC/ml

1. Na dno nové 50ml kónické zkumavky přidejte 100 µl PK.
2. Těsně před pipetováním zajistěte řádné promíchání vzorku krve tak, že odběrovou zkumavku na krev 8krát obrátíte. Krevní odběrové zkumavky EDTA viz pokyny výrobce.
3. Do zkumavky, která již obsahuje PK, přidejte 250 µl vzorku krve a 3,75 ml 1xPBS (pH 7,4, dodá uživatel).
4. Promíchejte vzorek ve vortexové míchačce nastavené na maximální výkon, a to nepřetržitě po dobu 3 vteřin.
5. Inkubujte při pokojové teplotě po dobu 1 minuty.
6. Pro přípravu konečného lyzátu postupujte podle kroků 6–17 v Část 12.2.1.
7. Zbylé reagentie PK nebo LY zlikvidujte.

12.3 Příprava kazety

Jak přidat vzorek do kazety Xpert NPM1 Mutation:

1. Vyjměte kazetu z kartónového obalu.
2. Zkontrolujte, zda kazeta není poškozená. Poškozené kazety nepoužívejte.
3. Otevřete kazetu zvednutím víka kazety a vyprázdněte veškerý obsah jedné (1) ampule promývací reagentie do komory pro promývací reagentii (s malým otvorem). Viz Obrázek 1.
4. Napipetujte veškerý obsah připraveného vzorku (4,5 ml) do komory na vzorek (velký otvor). Viz Obrázek 1.



Obrázek 1. Xpert NPM1 Mutation Kazeta (pohled shora)

5. Zavřete víko kazety. Ujistěte se, že víko pevně zapadne na místo. Spusťte test (viz Část 12.4, Spuštění testu).

12.4 Spuštění testu

Důležité Před spuštěním testu se ujistěte, že v systému je nainstalován software GeneXpert Dx 6.2 nebo vyšší a že do softwaru byl importován správný soubor definice testu. Tato část uvádí výchozí kroky k obsluze systému GeneXpert Dx System.

Poznámka Postup se může lišit, pokud správce systému změnil výchozí pracovní postup systému.

1. Systém GeneXpert zapnete tak, že nejprve zapnete přístroj GeneXpert Dx a poté počítač. Software GeneXpert Dx se spustí automaticky, nebo může vyžadovat dvojité kliknutí na ikonu zástupce softwaru GeneXpert Dx na pracovní ploše systému Windows®.
2. Přihlaste se do softwaru GeneXpert použitím svého uživatelského jména a hesla.
3. V okně **systému GeneXpert** klikněte na tlačítko **Vytvořit test (Create Test)** (GeneXpert Dx). Otevře se okno **Vytvořit test (Create Test)**.
4. Naskenujte nebo zadejte ID pacienta. Pokud ID pacienta (Patient ID) zadáváte, dbejte, aby bylo zadáno správně. ID pacienta (Patient ID) je spojeno s výsledky testu a je zobrazeno v okně **Zobrazit výsledky (View Results)**. Objeví se dialogový rámeček **Naskenovat čárový kód ID vzorku (Scan Sample ID barcode)**.

5. Oskenujte nebo zadejte ID vzorku (Sample ID). Pokud ID vzorku (Sample ID) zadáváte, dbejte, aby bylo zadáno správně. ID vzorku (Sample ID) se zobrazuje na levé straně okna **zobrazení výsledků (View Results)** a všech výsledků testů. Objeví se dialogový rámeček **Naskenovat čárový kód kazety (Scan Cartridge Barcode)**.
6. Naskenujte čárový kód kazety Xpert NPM1 Mutation. Pomocí informací z čárového kódu software automaticky vyplní následující pole: ID šarže reagensie (Reagent Lot ID), Sériové číslo kazety (Cartridge SN) a Datum expirace (Expiration Date).

Poznámka

Pokud se čárový kód na kazetě Xpert NPM1 Mutation neoskenuje, opakujte test s novou kazetou. Pokud jste naskenovali čárový kód kazety v softwaru a soubor definice analýzy není k dispozici, otevře se obrazovka s informací, že v systému není načten soubor definice analýzy. Pokud se zobrazí tato obrazovka, kontaktujte technickou podporu společnosti Cepheid.

7. Klikněte na tlačítko **Spustit test (Start Test)**. V zobrazeném dialogovém okně může být nutné zadat heslo.
8. Otevřete dvířka modulu přístroje s blikajícím zeleným světlem a založte kazetu.
9. Zavřete dvířka. Spustí se test a zelené světlo přestane blikat. Po dokončení testu světlo zhasne.
10. Před otevřením dvířek modulu a vyjmutím kazety počkejte, až systém uvolní zámek dvířek.
11. Použité kazety zlikvidujte do vhodné odpadové nádoby na vzorky podle standardní praxe vašeho zařízení.

Poznámka

Doba do dosažení výsledku je kratší než 3 hodiny (přibližně 30 minut příprava vzorku mimo přístroj a méně než 2,5 hodiny provádění testu).

13 Zobrazení a tisk výsledků

Tato část uvádí základní kroky při zobrazení a tisku výsledků. Podrobnější pokyny k zobrazení a tisku výsledků uvádí *GeneXpert Dx System Operator Manual*.

- Výsledky zobrazíte kliknutím na ikonu **Zobrazení výsledků (View Results)**.
- Po dokončení testu klikněte na tlačítko **Zpráva (Report)** na obrazovce **Zobrazení výsledků (View Results)** pro zobrazení a/nebo vytvoření PDF souboru zprávy.

14 Kontrola kvality

Každá kazeta zahrnuje endogenní kontrolu ABL1 a kontrolní systém sondy (PCC).

Endogenní kontrola ABL1 – endogenní kontrola ABL1 ověřuje, zda je v testu použito dostatečné množství vzorku. Tato kontrola navíc detekuje inhibici testu PCR související se vzorkem v reálném čase. ABL1 vyhovuje, pokud splňuje přiřazená kritéria přijatelnosti.

Systém kontroly sondy (PCC) – před zahájením PCR reakce měří systém GeneXpert fluorescenční signál ze sond a monitoruje tak rehydrataci perliček, plnění reakční zkumavky a zda jsou všechny složky reakcí v kazetě funkční. PCC vyhovuje, pokud splňuje validovaná kritéria přijatelnosti.

15 Interpretace výsledků

Výsledky jsou interpretovány automaticky přístrojovým systémem GeneXpert z naměřených fluorescenčních signálů a vložených výpočetních algoritmů a jsou zřetelně zobrazovány v okně Zobrazení výsledků (View Results). Možné výsledky a interpretace jsou uvedeny v Tabulka 1.

Tabulka 1. Xpert NPM1 Mutation Výsledky a interpretace testu

Výsledek	Interpretace
DETEKOVÁNA mutace NPM1 (NPM1 Mutation DETECTED) Viz Obrázek 2, Obrázek 3, Obrázek 4	Byl zjištěn transkript s mutací NPM1. <ul style="list-style-type: none"> DETEKOVÁNA mutace NPM1 (NPM1 Mutation DETECTED) – byl detekován transkript s mutací NPM1 a má hodnotu prahu cyklů (Ct) v platném rozsahu a koncový parametr nad nastavenou prahovou hodnotou. Možné detekované výsledky: <ul style="list-style-type: none"> DETEKOVÁNA MUTACE NPM1 [#,###%] (NPM1 MUTATION DETECTED [#,###%]); Obrázek 2. DETEKOVÁNA MUTACE NPM1 [nad horní hranici LoQ] (NPM1 MUTATION DETECTED [Above upper LoQ]); Obrázek 3. DETEKOVÁNA MUTACE NPM1 [pod hranici LoD; <#,###%] (NPM1 MUTATION DETECTED [Below LoD; #,###%]); Obrázek 4. ABL ÚSPĚCH (PASS); transkript ABL byl detekován a má hodnotu prahu cyklů (Ct) v platném rozsahu a koncový parametr nad nastavenou prahovou hodnotou. Kontrola sondy ÚSPĚŠNÁ (PASS) – všechny výsledky kontroly sondy byly úspěšné.
NEDETEKOVÁNA mutace NPM1 (NPM1 Mutation NOT DETECTED) Viz Obrázek 5	Nebyl zjištěn transkript s mutací NPM1. <ul style="list-style-type: none"> NEDETEKOVÁNA mutace NPM1 [dostatečný transkript ABL] (NPM1 Mutation DETECTED [Sufficient ABL transcript]) – nebyl detekován transkript s mutací NPM1 a má prahovou hodnotu cyklu (Ct) nulu nebo vyšší než horní hranice platného rozsahu a/nebo koncový parametr je nižší než nastavená prahová hodnota. ABL ÚSPĚCH (PASS); transkript ABL byl detekován a má hodnotu prahu cyklů (Ct) v platném rozsahu a koncový parametr nad nastavenou prahovou hodnotou. Kontrola sondy ÚSPĚŠNÁ (PASS) – všechny výsledky kontroly sondy byly úspěšné.
NEPLATNÝ (INVALID) Viz Obrázek 6, Obrázek 7, Obrázek 8, Obrázek 9, Obrázek 10	Hladinu transkriptu s mutací NPM1 nelze stanovit, protože vzorek obsahuje nadbytečný počet transkriptů s mutací NPM1 a/nebo nadbytečný či nedostatečný počet transkriptů ABL. Další pokyny pro opakované testování vzorku viz Část 18, Příručka k odstraňování problémů. <ul style="list-style-type: none"> Mutace NPM1 NEPLATNÁ (INVALID) – prahová hodnota cyklu (Ct) pro NPM1 byla nad nulou a pod dolní hranici platného rozsahu (Obrázek 8, Obrázek 9). ABL NEÚSPĚŠNÝ (FAIL) – prahová hodnota cyklu (Ct) pro ABL nebyla v platném rozsahu nebo koncový parametr byl pod nastavenou prahovou hodnotou (Obrázek 6, Obrázek 7, Obrázek 8, Obrázek 10). Kontrola sondy – ÚSPĚŠNÁ (PASS); všechny výsledky kontroly sondy byly úspěšné.
CHYBA (ERROR) Viz Obrázek 11	Hladinu transkriptu s mutací NPM1 nelze určit. Další pokyny pro opakované testování vzorku viz Část 18, Příručka k odstraňování problémů. <ul style="list-style-type: none"> Mutace NPM1 ŽÁDNÝ VÝSLEDEK (NO RESULT) ABL ŽÁDNÝ VÝSLEDEK (NO RESULT) Kontrola sondy NEÚSPĚŠNÁ (FAIL) – jeden nebo všechny výsledky kontroly sondy byly neúspěšné. Kontrola sondy ÚSPĚŠNÁ (PASS) nebo NA (Neuplatňuje se) ukončení z důvodu tlaku*. * Pokud kontrola sondy proběhla úspěšně, byla chyba způsobena maximálním limitem tlaku přesahujícím přijatelný rozsah nebo selháním součásti systému.
ŽÁDNÝ VÝSLEDEK (NO RESULT)	Hladinu transkriptu s mutací NPM1 nelze určit. Nebylo shromážděno dostatečné množství dat k vyprodukování výsledku testu. Tato situace může nastat například tehdy, když operátor zastavil probíhající test. Další pokyny pro opakované testování vzorků viz Část 18, Příručka k odstraňování problémů. <ul style="list-style-type: none"> Mutace NPM1 ŽÁDNÝ VÝSLEDEK (NO RESULT) ABL ŽÁDNÝ VÝSLEDEK (NO RESULT) Kontrola sondy NA (Neuplatňuje se)

16 Kvantitativní výsledky

Kvantitativní výstupy Xpert NPM1 Mutation jsou vykázány jako procentuální poměr mutace NPM1/ABL1. Souprávkám jsou přiřazeny hodnoty účinnosti ($E_{\Delta Ct}$) a faktoru stupňován (SF) specifické pro danou šarži, které upravují kvantifikaci transkriptů mutace NPM1 (A, B a D) a ABL1 na počty kopií syntetických primárních standardů mutace NPM1 a transkribované *in vitro* RNA (IVT-RNA) ABL1.

Tabulka 2. Příklady výsledků testů Xpert NPM1 Mutation

Test	Mutantní NPM1		ABL		Xpert NPM1 Mutation Výsledky testu	Poznámky
	Ct	Výsledek ^a	Ct	Výsledek ^a		
1	5,2	NEPLATNÝ (INVALID)	5,8	NEÚSPĚŠNÝ (FAIL)	NEPLATNÝ [transkripty mutace NPM1 a ABL jsou příliš vysoké] (INVALID [Too high NPM1 Mutation and ABL transcripts])	Neuplatňuje se
2	9	NEPLATNÝ (INVALID)	5,5	NEÚSPĚŠNÝ (FAIL)	NEPLATNÝ [transkripty ABL jsou příliš vysoké] (INVALID [Too high ABL transcripts])	Neuplatňuje se
3	5,5	NEPLATNÝ (INVALID)	8,5	ÚSPĚŠNÝ (PASS)	NEPLATNÝ [transkripty mutace NPM1 jsou příliš vysoké] (INVALID [Too high NPM1 Mutation transcripts])	Neuplatňuje se
4	25,0	NEPLATNÝ (INVALID)	21,8	NEÚSPĚŠNÝ (FAIL)	NEPLATNÝ [nedostatečný transkript ABL] (INVALID [Insufficient ABL transcript])	Neuplatňuje se
5	0	NEPLATNÝ (INVALID)	0	NEÚSPĚŠNÝ (FAIL)	NEPLATNÝ [žádný transkript ABL] (INVALID [No ABL transcript])	Neuplatňuje se
6	8,5	POZ	13,6	ÚSPĚŠNÝ (PASS)	DETEKOVÁNA mutace NPM1 [nad horní hranici LoQ] (NPM1 Mutation DETECTED [Above upper LoQ])	Neuplatňuje se
7	22,5	POZ	14,8	ÚSPĚŠNÝ (PASS)	DETEKOVÁNA mutace NPM1 [1,05 %] (NPM1 Mutation DETECTED [1.05%])	Nahlášená hodnota: 1,05 %
8	27,9	POZ	14,0	ÚSPĚŠNÝ (PASS)	DETEKOVÁNA mutace NPM1 [pod hranici LoQ; <0,030%] (NPM1 Mutation DETECTED [Below LoQ; < 0.030%])	Neuplatňuje se
9	0	NEG	14,6	ÚSPĚŠNÝ (PASS)	NEGATIVNÍ [dostatečný transkript ABL] (NEGATIVE [Sufficient ABL transcript])	Neuplatňuje se
10	0	ŽÁDNÝ VÝSLEDEK (NO RESULT)	0	ŽÁDNÝ VÝSLEDEK (NO RESULT)	CHYBA (ERROR)	Například, Chyba 5017 [ABL] kontrola sondy selhala (Error 5017 [ABL] probe check failed)

^a Podrobnosti viz karta Výsledky analytů v softwaru systému GeneXpert Dx.

16.1 DETEKOVÁNA mutace NPM1 [#,##]% (NPM1 Mutation DETECTED [#,##]%)

Byla zjištěna mutace NPM1 na hladině #,##%.

V případě výsledku „**DETEKOVÁNA mutace NPM1 [#,##]%**“ (NPM1 Mutation DETECTED [#,##]%) je mutace NPM1 detekovatelná s Ct pro mutaci NPM1 větší nebo rovnou „6“ a menší nebo rovnou „32“ a Ct pro ABL větší nebo rovnou „6“ a menší nebo rovnou „20“. Software GeneXpert vypočítá % pomocí následující rovnice, kde se hodnota delta Ct (ΔCt) získá z Ct pro ABL minus Ct pro mutaci NPM1:

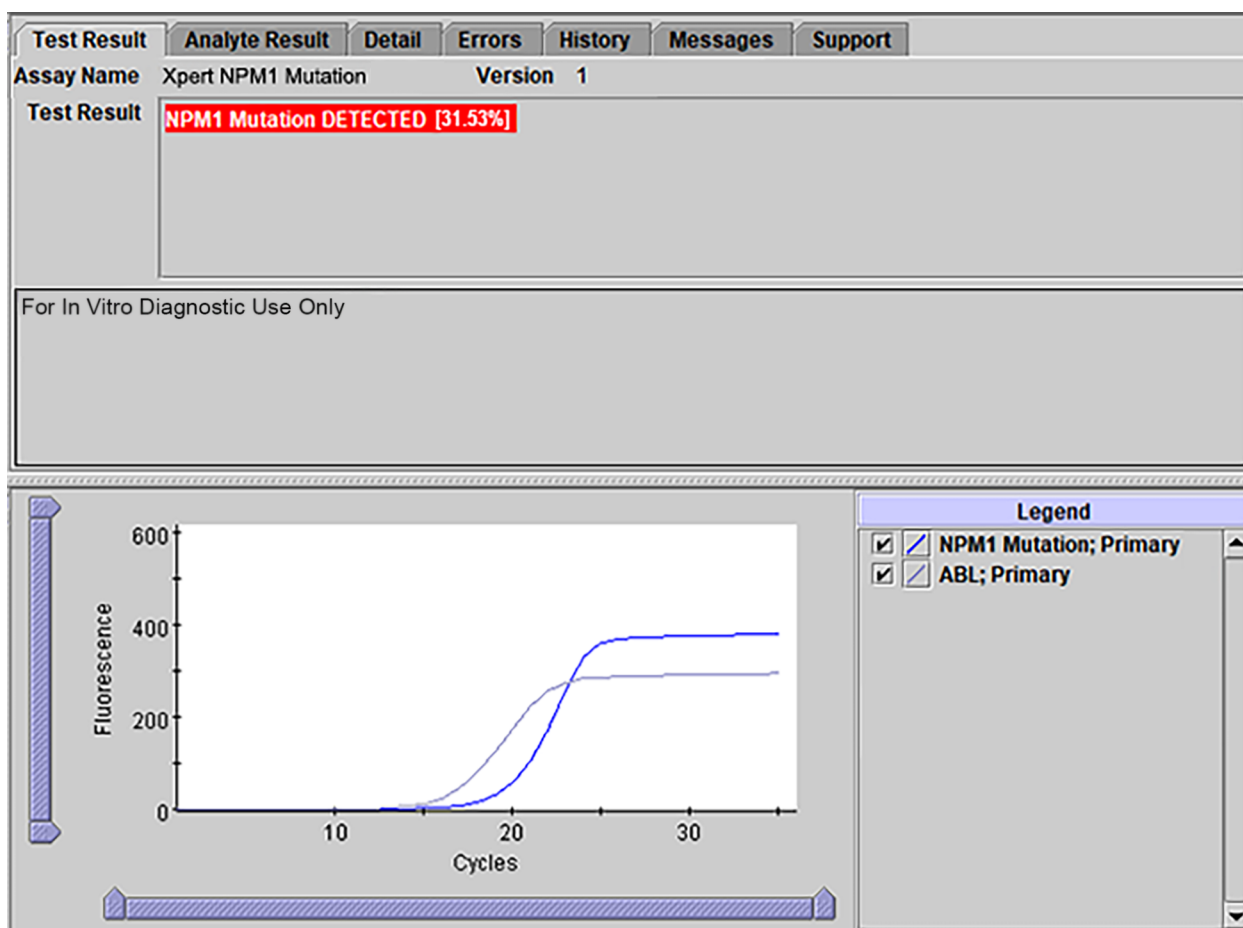
$$\% = E_{\Delta Ct}^{(\Delta Ct)} \times 100 \times \text{faktor stupňování}$$

Poznámka

Faktor stupňování (SF) je parametr specifický pro šarži, který je vložen do čárového kódu kazety s testem. Hodnota tohoto faktoru a účinnost testu specifická pro danou šarži ($E_{\Delta Ct}$) se stanoví při testování kontroly kvality každé šarže testu pomocí primárních standardů kalibrovaných podle počtu kopií syntetické mutace NPM1 a kalibrátorů transkribované *in vitro* RNA (IVT-RNA) ABL1 pro kvantifikaci transkriptu s mutací NPM1. Pro použití v následujícím příkladu je hodnota $E_{\Delta Ct}$ nastavena na 1,95 a hodnota SF na 1,79.

Příklad: Specifická pro šarži hodnota $E_{\Delta Ct} = 1,95$; $SF = 1,79$
 Ct pro test ABL = 14,5; Ct pro mutaci NPM1 = 17,1; $\Delta Ct = -2,6$
 $\% = 1,95^{(-2,6)} \times 100 \times 1,79 = 31,53 \%$

Výsledek: **DETEKOVÁNA mutace NPM1 [31,53%]** (NPM1 Mutation DETECTED [31.53%]). Viz Obrázek 2.



Obrázek 2. GeneXpert DxOkno zobrazení výsledků : DETEKOVÁNA mutace NPM1 [31,53%] (NPM1 Mutation DETECTED [31.53%])

16.2 DETEKOVÁNA mutace NPM1 [nad horní hranicí LoQ] (NPM1 Mutation DETECTED [Above upper LoQ])

Byla zjištěna mutace NPM1 na hladině >500 %.

V případě výsledku „**DETEKOVÁNA mutace NPM1 [nad horní hranicí LoQ]**“ (NPM1 Mutation DETECTED [Above upper LoQ]) je mutace NPM1 detekovatelná s Ct pro mutaci NPM1 větší nebo rovnou „6“ a menší nebo rovnou „32“ a Ct pro ABL větší nebo rovnou „6“ a menší nebo rovnou „20“. Software GeneXpert vypočítá % pomocí následující rovnice, kde se hodnota delta Ct (ΔCt) získá z Ct pro ABL minus Ct pro mutaci NPM1:

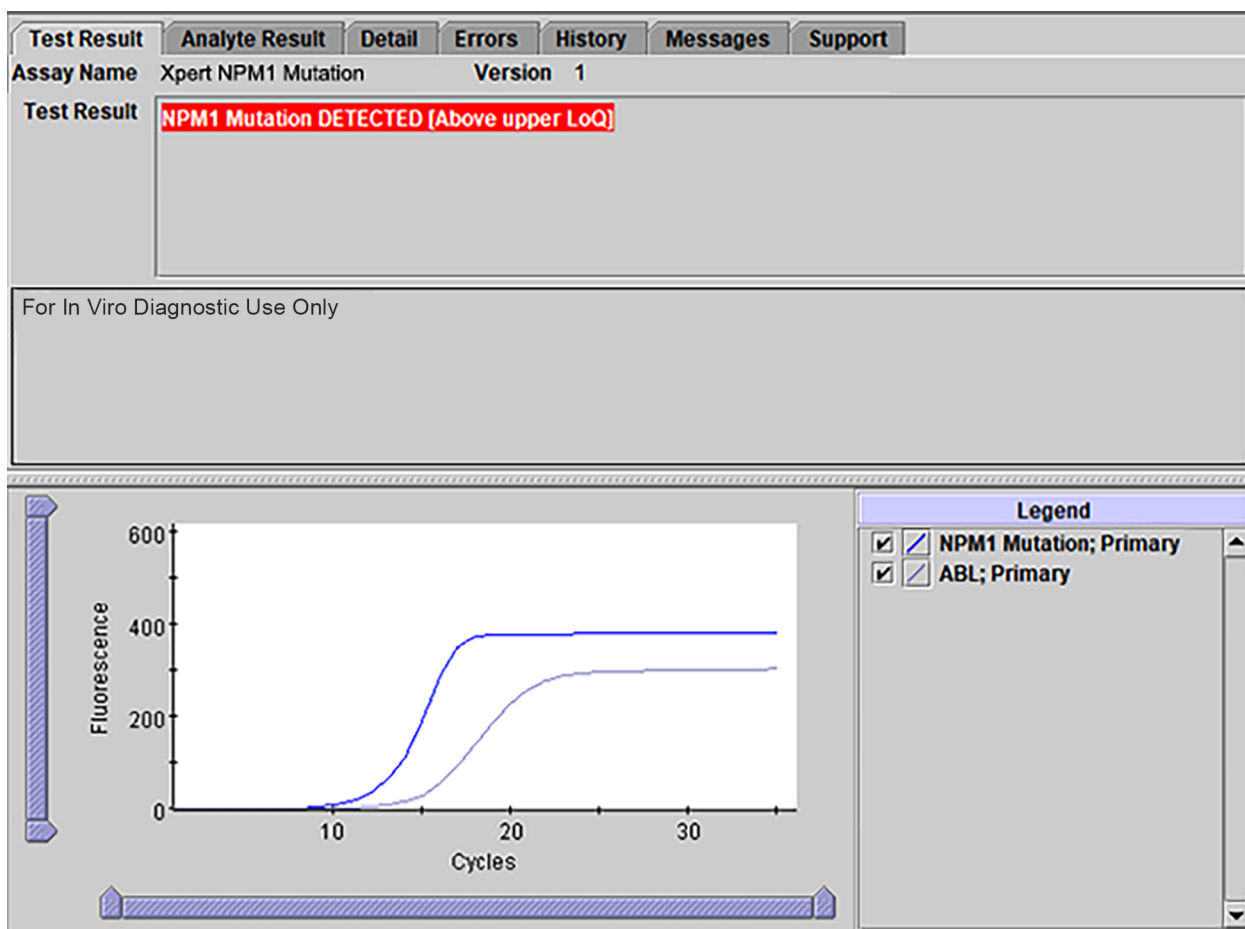
$$\% = E_{\Delta Ct}^{(\Delta Ct)} \times 100 \times \text{faktor stupňování (SF)}$$

Faktor stupňování (*SF*) je parametr specifický pro šarži, který je vložen do čárového kódu kazety s testem. Hodnota tohoto faktoru a účinnost testu specifická pro danou šarži ($E_{\Delta Ct}$) se stanoví při testování kontroly kvality každé šarže testu pomocí primárních standardů kalibrovaných podle počtu kopií syntetické mutace NPM1 a kalibrátorů transkribované *in vitro* RNA (IVT-RNA) ABL1 pro kvantifikaci transkriptu s mutací NPM1. Pro použití v následujícím příkladu je hodnota $E_{\Delta Ct}$ nastavena na 1,95 a hodnota *SF* na 1,79.

Poznámka

Příklad: Specifická pro šarži hodnota $E_{\Delta Ct} = 1,95$; $SF = 1,79$
 Ct pro test ABL = 13,4; Ct pro mutaci NPM1 = 10,2; $\Delta Ct = 3,2$
 $\% = 1,95^{(3,2)} \times 100 \times 1,79 = 1516,92 \%$ je větší než definovaná horní hranice LoQ testu na 500 %

Výsledek: **DETEKOVÁNA mutace NPM1 [nad horní hranicí LoQ] (NPM1 Mutation DETECTED [Above upper LoQ]).** Viz Obrázek 3.



Obrázek 3. GeneXpert DxOkno zobrazení výsledků : DETEKOVÁNA mutace NPM1 [nad horní hranicí LoQ] (NPM1 Mutation DETECTED [Above upper LoQ])

16.3 DETEKOVÁNA mutace NPM1 [pod hranicí LoQ; <0,030%] (NPM1 Mutation DETECTED [Below LoQ; < 0.030%])

Byla zjištěna mutace NPM1 na hladině <0,030%.

V případě výsledku „DETEKOVÁNA mutace NPM1 [pod hranicí LoQ; <0,030%]“ (NPM1 Mutation DETECTED [Below LoQ; < 0.030%]) je mutace NPM1 detekovatelná s Ct pro mutaci NPM1 větší nebo rovnou „6“ a menší nebo rovnou „32“ a Ct pro ABL větší nebo rovnou „6“ a menší nebo rovnou „20“. Software GeneXpert vypočítá % pomocí následující rovnice, kde se hodnota delta Ct (ΔCt) získá z Ct pro ABL minus Ct pro mutaci NPM1:

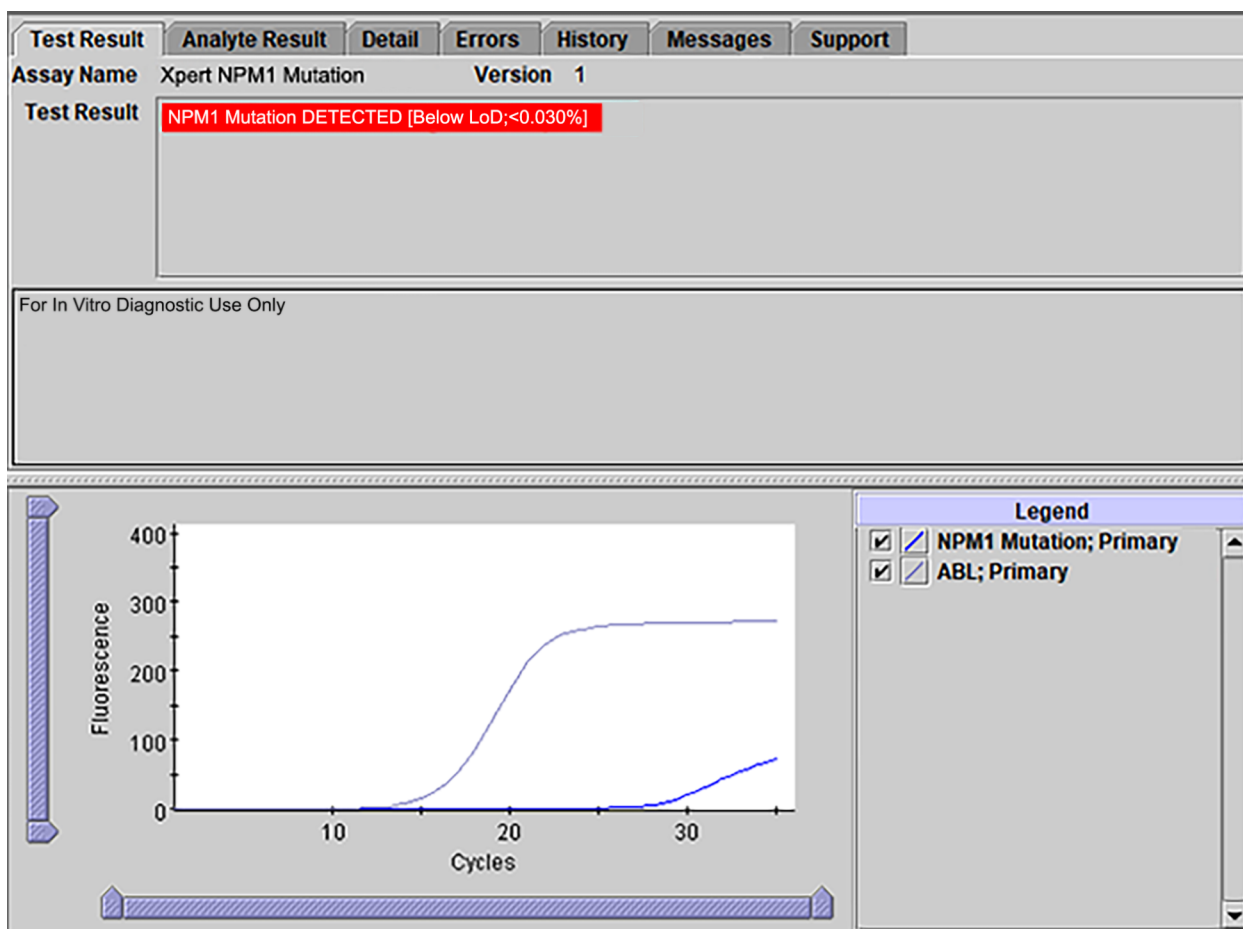
$$\% = E_{\Delta Ct}^{(\Delta Ct)} \times 100 \times \text{faktor stupňování (SF)}$$

Faktor stupňování (*SF*) je parametr specifický pro šarži, který je vložen do čárového kódu kazety s testem. Hodnota tohoto faktoru a účinnost testu specifická pro danou šarži ($E_{\Delta Ct}$) se stanoví při testování kontroly kvality každé šarže testu pomocí primárních standardů kalibrovaných podle počtu kopií syntetické mutace NPM1 a kalibrátorů transkribované *in vitro* RNA (IVT-RNA) ABL1 pro kvantifikaci transkriptu s mutací NPM1. Pro použití v následujícím příkladu je hodnota $E_{\Delta Ct}$ nastavena na 1,95 a hodnota *SF* na 1,79.

Poznámka

Příklad: Specifická pro šarži hodnota $E_{\Delta Ct} = 1,95$; $SF = 1,79$
 Ct pro test ABL = 14,3; Ct pro mutaci NPM1 = 28,8; $\Delta Ct = -14,5$
 $\% = 1,95^{(-14.5)} \times 100 \times 1,79 = 0.011 \%$ je menší než definovaná horní hranice LoQ testu na 0,030 %

Výsledek: **DETEKOVÁNA mutace NPM1 [pod hranicí LoQ; < 0,030%]** (NPM1 Mutation DETECTED [Below LoQ; < 0.030%]). Viz Obrázek 4.



Obrázek 4. Okno zobrazení výsledků GeneXpert: DETEKOVÁNA mutace NPM1 [pod hranicí LoQ; <0,030%] (NPM1 Mutation DETECTED [Below LoQ; < 0.030%])

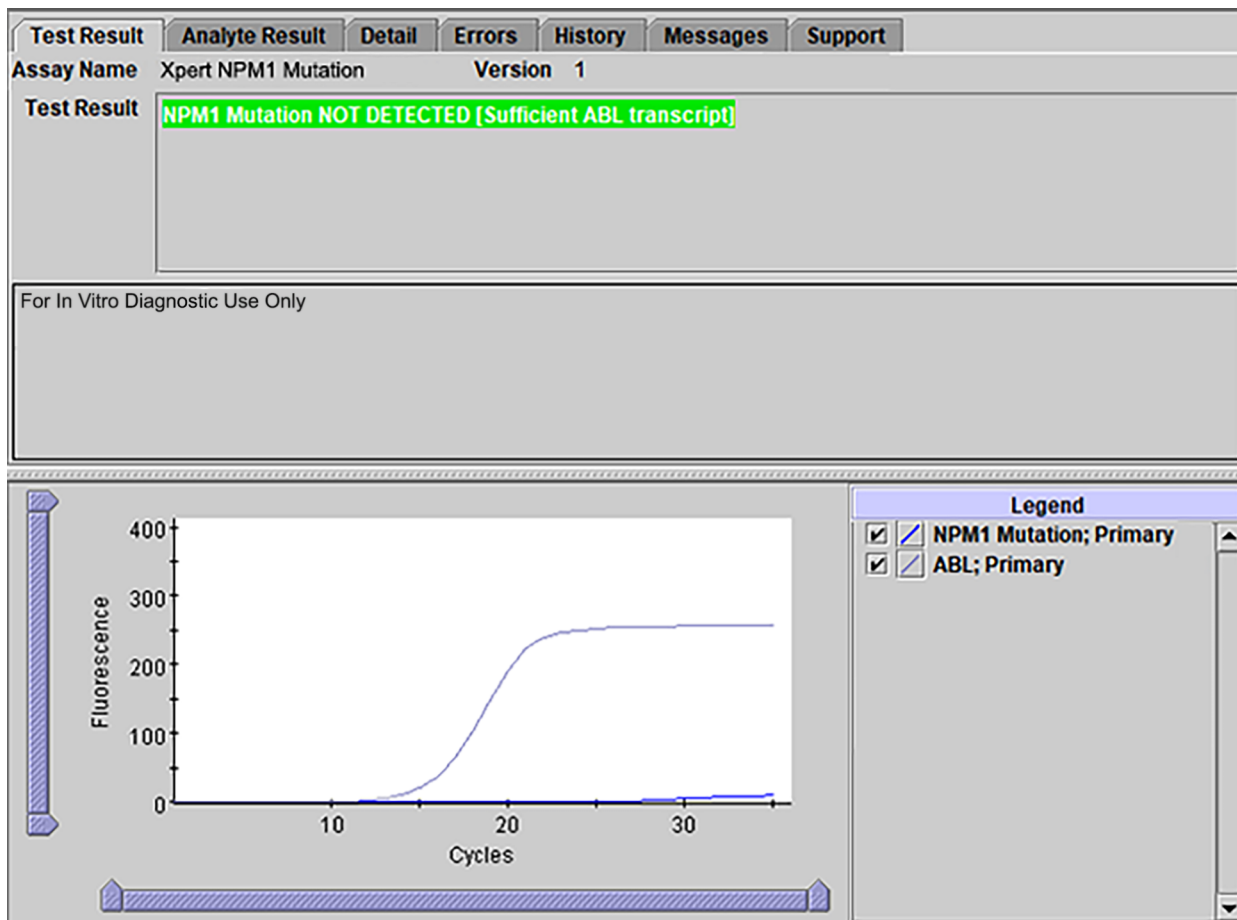
16.4 NEDETEKOVÁNA mutace NPM1 [dostatečný transkript ABL] (NPM1 Mutation NOT DETECTED [Sufficient ABL transcript])

Mutace NPM1 byla detekována s Ct pro mutaci NPM1 rovnou „0“ a větší „32“ a Ct pro ABL větší než „6“ a menší nebo rovnou „20“.

Software GeneXpert vyžaduje, aby hodnota Ct pro ABL byla větší nebo rovna „6“ a menší nebo rovna „20“, aby test Xpert NPM1 Mutation zajistil „dostatečné množství transkriptu ABL“. Viz Část 15, Interpretace výsledků, tabulka 1.

Příklad: Ct pro test mutace NPM1 = 0; Ct pro ABL = 14,0 je mezi hodnotami „6“ a „20“.

Výsledek: **NEDETEKOVÁNA mutace NPM1 [dostatečný transkript ABL] (NPM1 Mutation NOT DETECTED [Sufficient ABL transcript]).** Viz Obrázek 5.



Obrázek 5. Okno zobrazení výsledků GeneXpert: NEDETEKOVÁNA mutace NPM1 [dostatečný transkript ABL] (NPM1 Mutation NOT DETECTED [Sufficient ABL transcript])

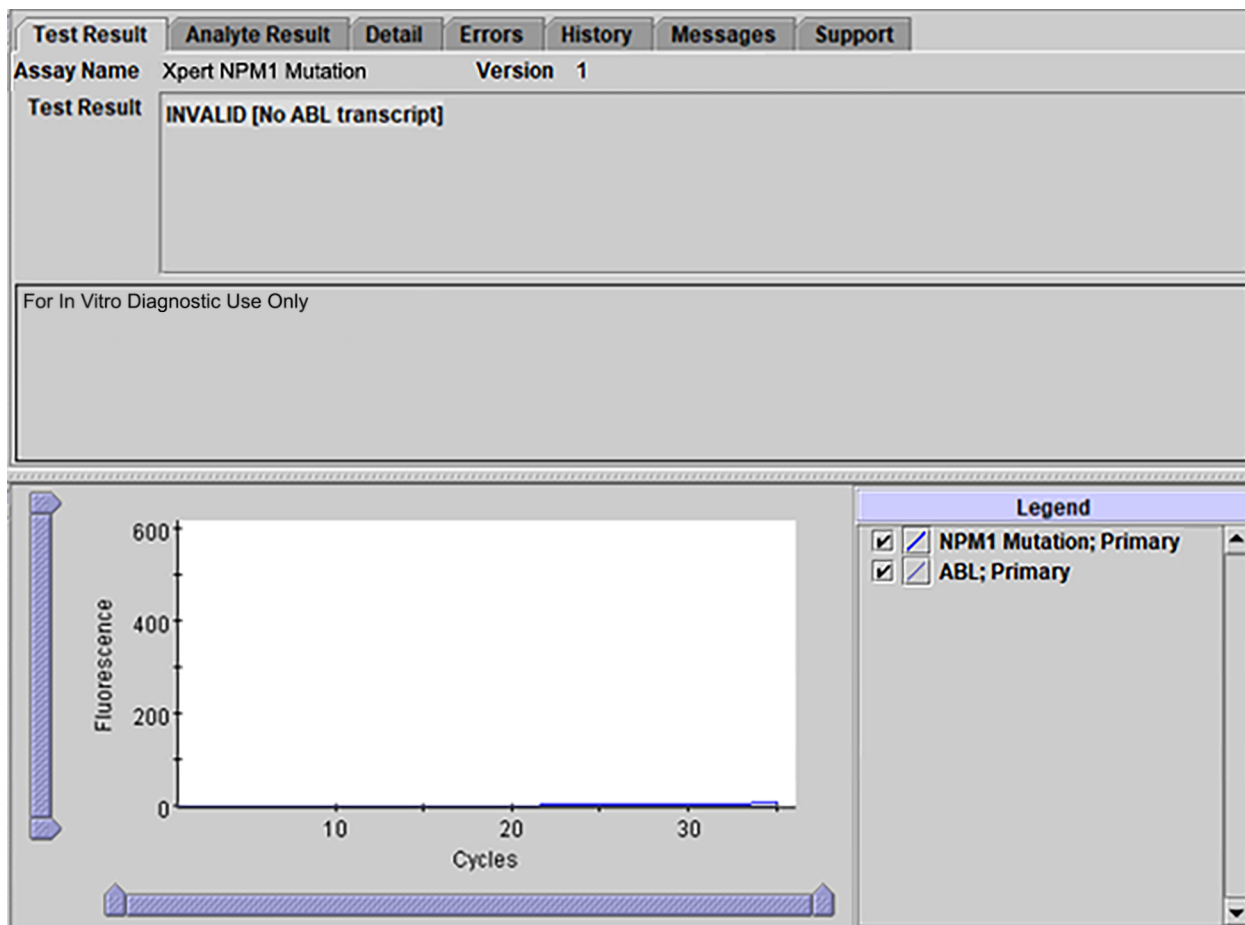
16.5 NEPLATNÝ [žádný transkript ABL] (INVALID [No ABL transcript])

Mutace NPM1 byla detekována nebo nebyla detekována u Ct pro ABL větší než „0“.

Software GeneXpert vyžaduje, aby hodnota Ct pro ABL byla větší nebo rovna „6“ a menší nebo rovna „20“, aby test Xpert NPM1 Mutation zajistil „dostatečné množství transkriptu ABL“. Viz Část 18, Příručka k odstraňování problémů.

Příklad: Ct pro test mutace NPM1 = 0; Ct pro ABL = 0.

Výsledek: **NEPLATNÝ [žádný transkript ABL] (INVALID [No ABL transcript])**. Viz Obrázek 6.



Obrázek 6. Okno zobrazení výsledků GeneXpert: NEPLATNÝ [žádný transkript ABL] (INVALID [No ABL transcript])

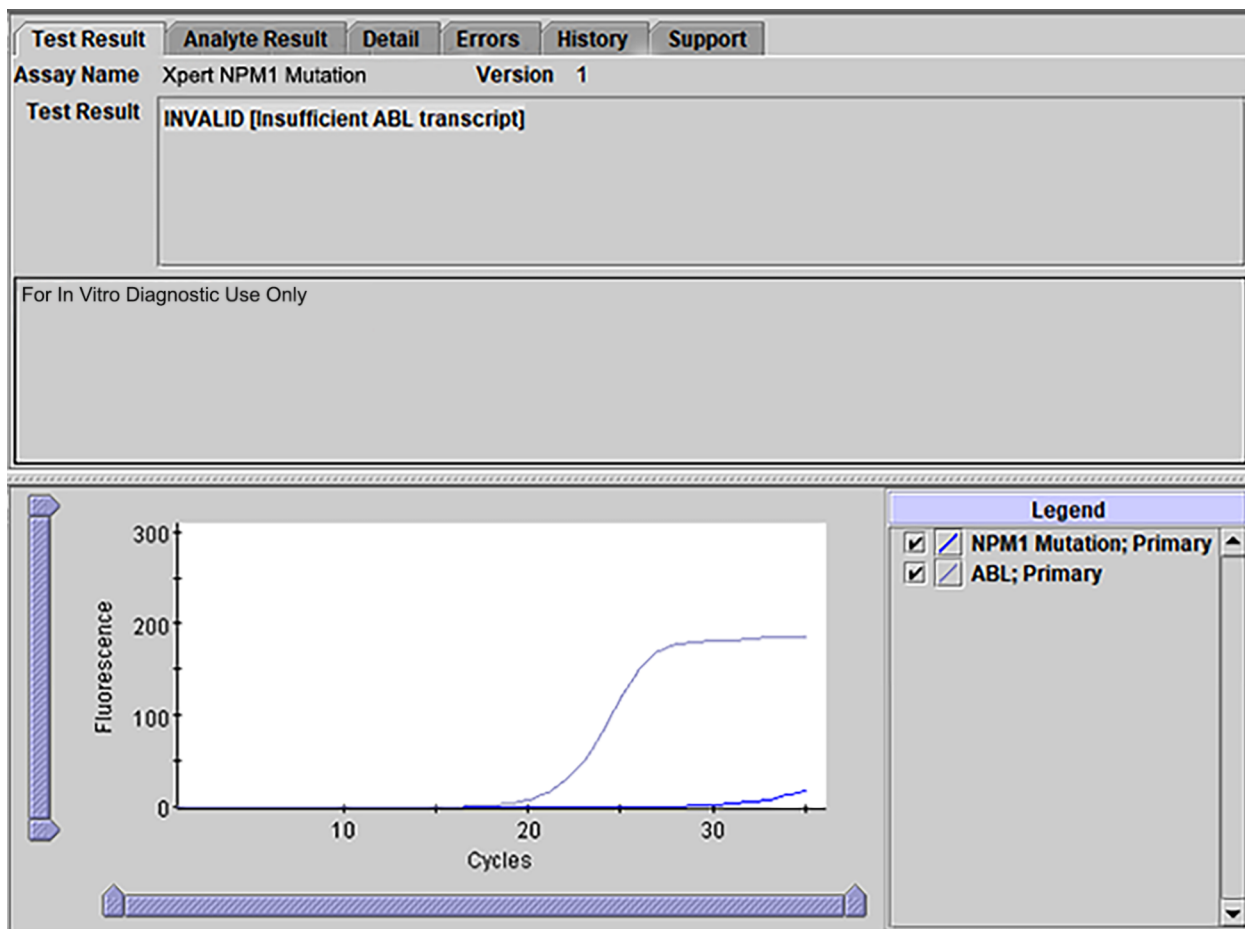
16.6 NEPLATNÝ [nedostatečný transkript ABL] (INVALID [Insufficient ABL transcript])

Mutace NPM1 byla detekována nebo nebyla detekována u Ct pro ABL větší než „20“.

Software GeneXpert vyžaduje, aby hodnota Ct pro ABL byla větší nebo rovna „6“ a menší nebo rovna „20“, aby test Xpert NPM1 Mutation zajistil „dostatečné množství transkriptu ABL“. Viz Část 18, Příručka k odstraňování problémů.

Příklad: Ct pro test mutace NPM1 = 33,3; Ct pro ABL = 20,2 je větší než „20“.

Výsledek: **NEPLATNÁ [nedostatečný transkript ABL] (INVALID [Insufficient ABL transcript])**. Viz Obrázek 7.



Obrázek 7. Okno zobrazení výsledků GeneXpert: NEPLATNÝ [nedostatečný transkript ABL] (INVALID [Insufficient ABL transcript])

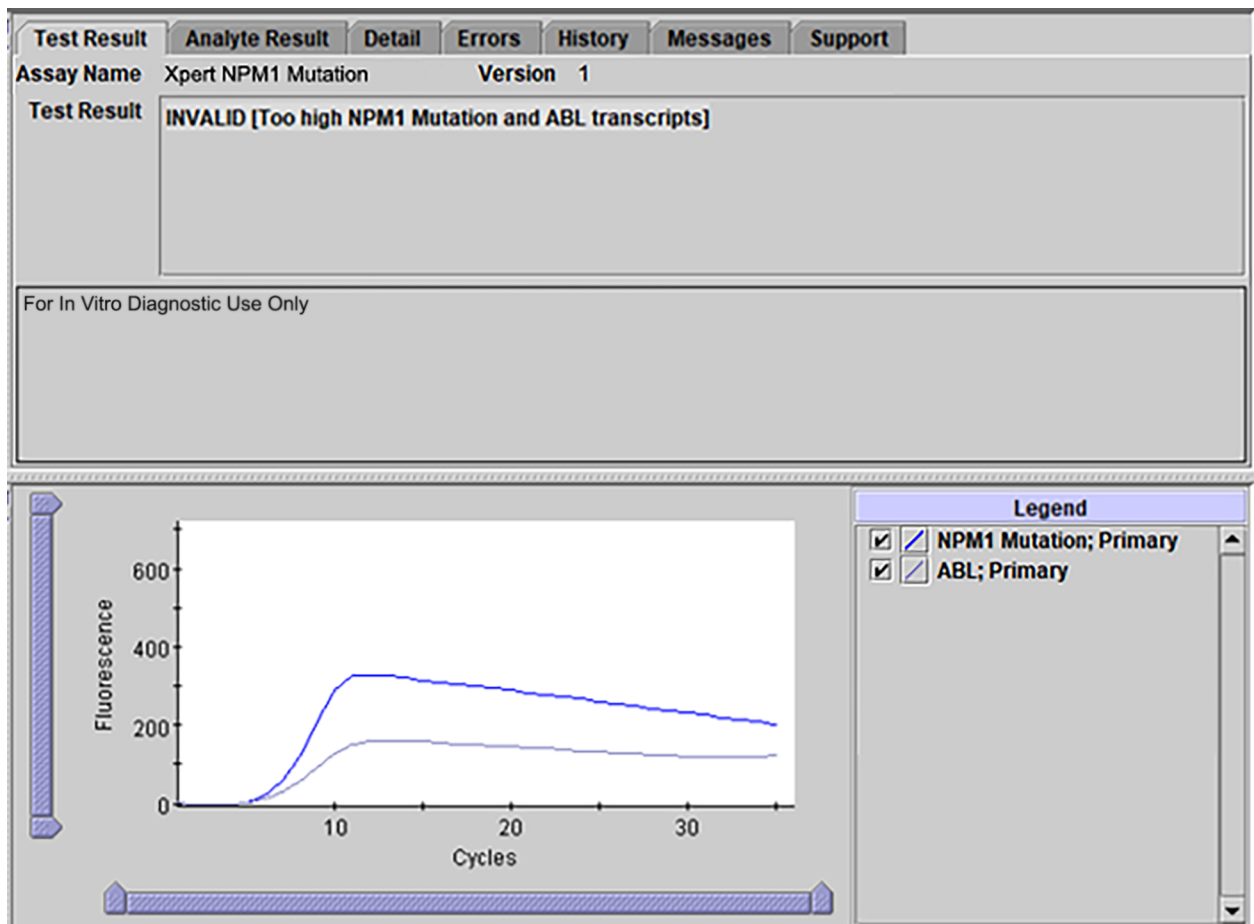
16.7 NEPLATNÝ [transkript mutace NPM1 a ABL je příliš vysoký] (INVALID [Too high NPM1 Mutation and ABL transcript])

Mutace NPM1 byla detekována jak u Ct pro mutaci NPM1, tak u Ct pro ABL, větších než „0“ a menších než „6“.

Software GeneXpert vyžaduje, aby hodnota Ct pro ABL byla větší nebo rovna „6“ a menší nebo rovna „20“, aby test Xpert NPM1 Mutation zajistil „dostatečné množství transkriptu ABL“. Viz Část 18, Příručka k odstraňování problémů.

Příklad: Ct pro test mutace NPM1 = 5,4 je větší než „0“ a menší než „6“; Ct pro ABL = 5,9 je menší než „6“.

Výsledek: **NEPLATNÝ [transkript mutace NPM1 a ABL je příliš vysoký] (INVALID [Too high NPM1 Mutation and ABL transcript]).** Viz Obrázek 8.



Obrázek 8. GeneXpert DxOkno zobrazení výsledků : NEPLATNÝ [transkript mutace NPM1 a ABL je příliš vysoký] (INVALID [Too high NPM1 Mutation and ABL transcript])

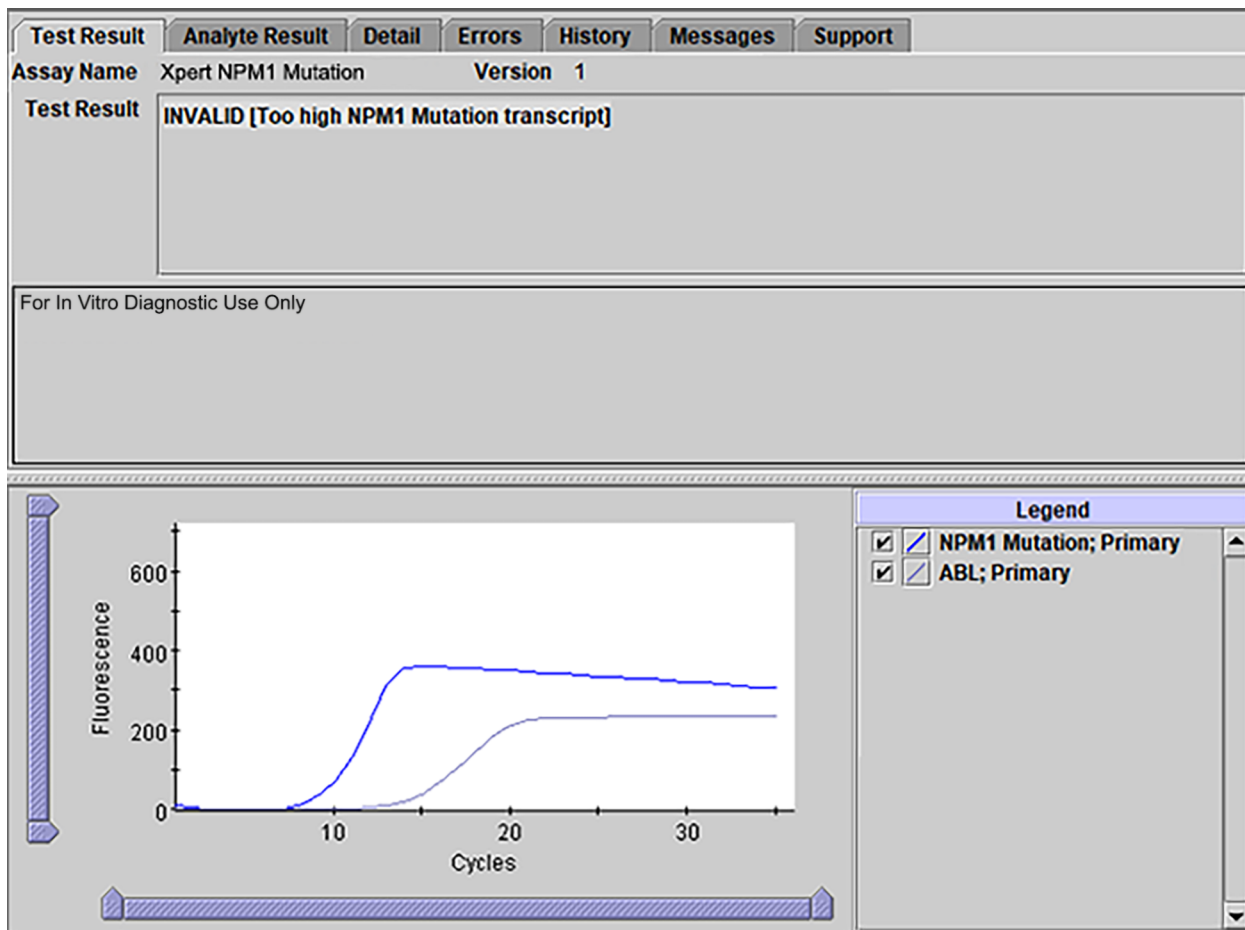
16.8 NEPLATNÝ [transkript mutace NPM1 je příliš vysoký] (INVALID [Too high NPM1 Mutation transcript])

Mutace NPM1 byla detekována s Ct pro mutaci NPM1 větší než „0“ a menší než „6“ a Ct pro ABL větší než „6“ a menší nebo rovnou „20“.

Software GeneXpert vyžaduje, aby hodnota Ct pro ABL byla větší nebo rovna „6“ a menší nebo rovna „20“, aby test Xpert NPM1 Mutation zajistil „dostatečné množství transkriptu ABL“. Viz Část 18, Příručka k odstraňování problémů.

Příklad: Ct pro test mutace NPM1 = 5,8 je větší než „0“ a menší než „6“; Ct pro ABL = 13 je mezi hodnotami „6“ a „20“.

Výsledek: **NEPLATNÝ [transkript mutace NPM1 je příliš vysoký] (INVALID [Too high NPM1 Mutation transcript]).** Viz Obrázek 9.



Obrázek 9. Okno zobrazení výsledků GeneXpert: NEPLATNÝ [transkript mutace NPM1 je příliš vysoký] (INVALID [Too high NPM1 Mutation transcript])

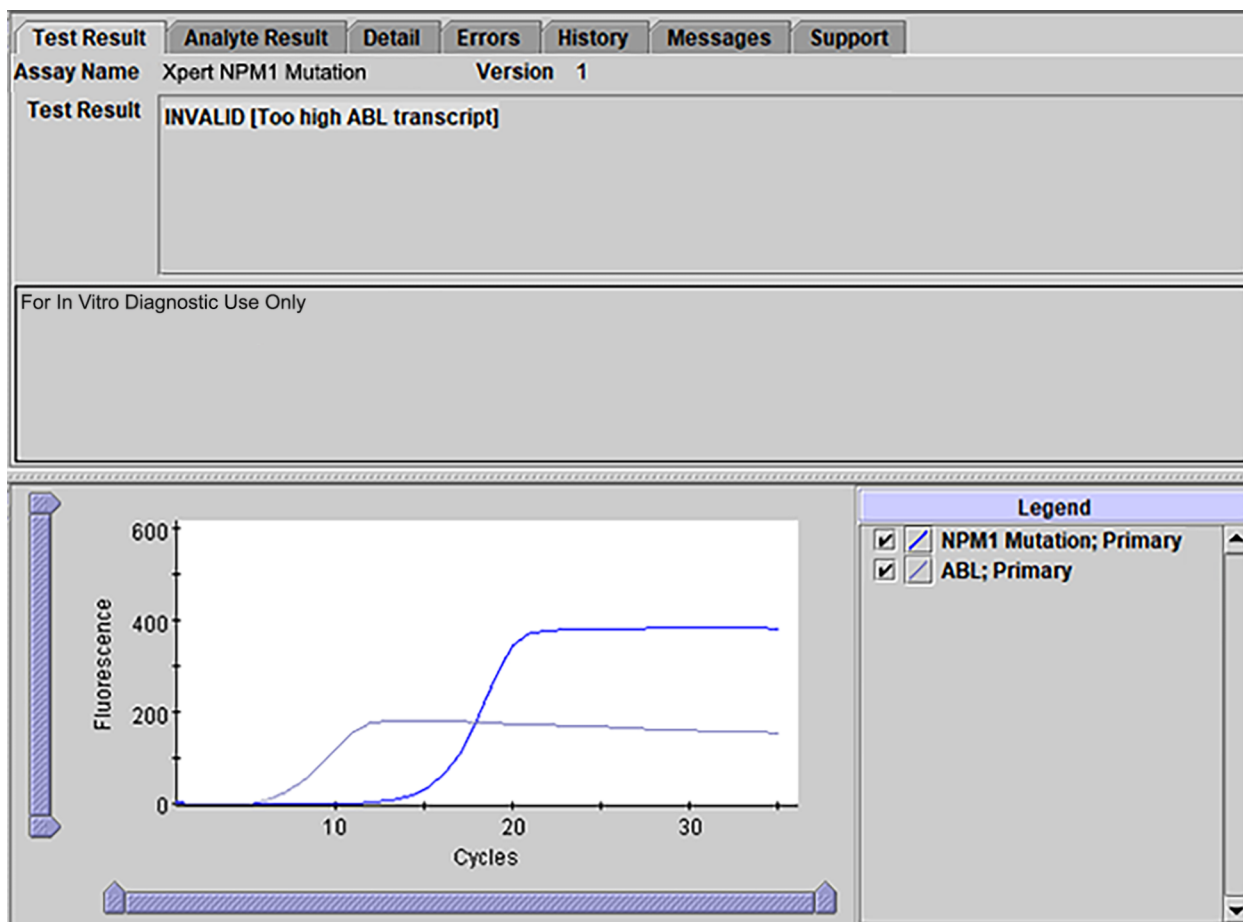
16.9 NEPLATNÝ [transkript ABL je příliš vysoký] (INVALID [Too high ABL transcript])

Mutace NPM1 byla detekována s Ct pro mutaci NPM1 větší než „6“ a menší nebo rovno „32“ a Ct pro ABL nerovnáající se „0“ a menší než „6“.

Software GeneXpert vyžaduje, aby hodnota Ct pro ABL byla větší nebo rovna „6“ a menší nebo rovna „20“, aby test Xpert NPM1 Mutation zajistil „dostatečné množství transkriptu ABL“. Viz Část 18, Příručka k odstraňování problémů.

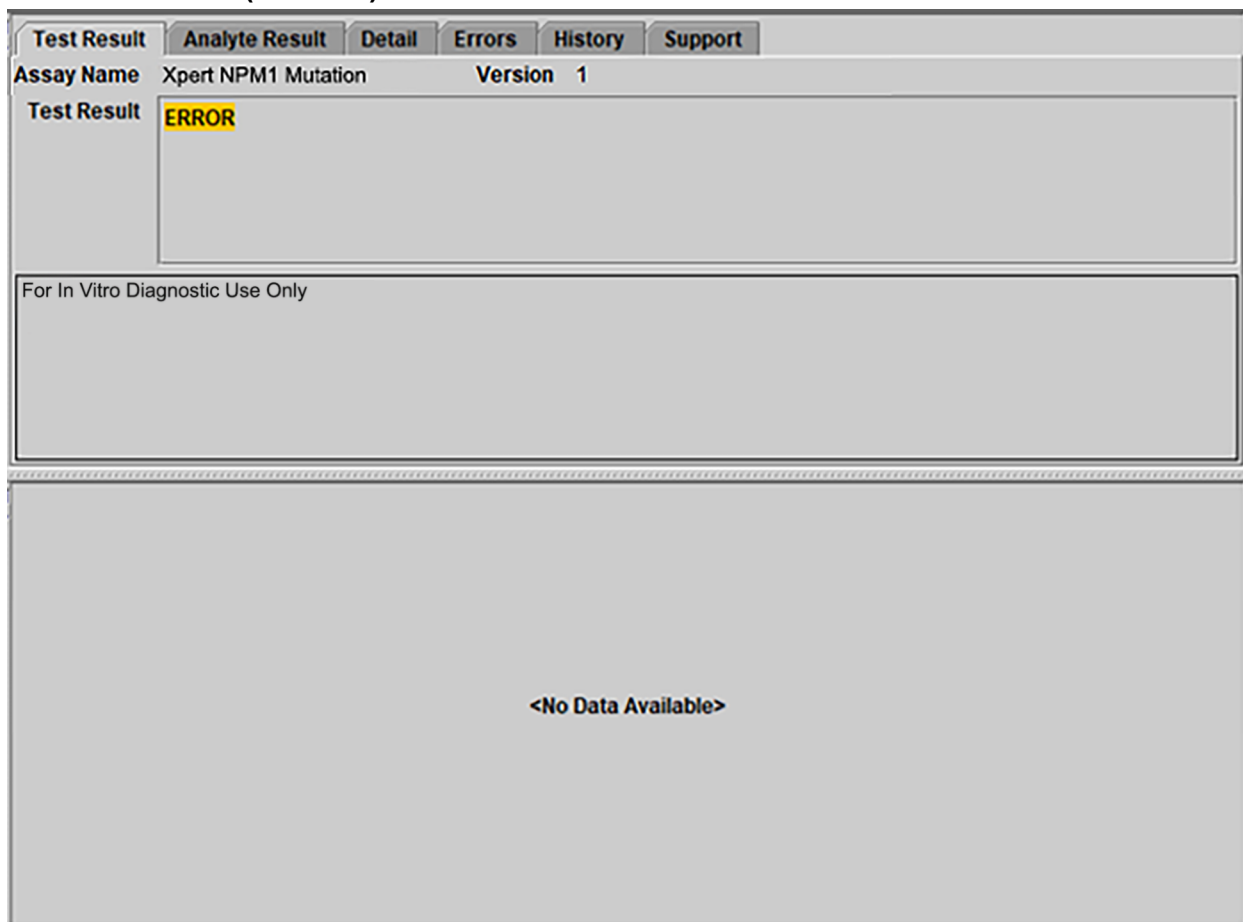
Příklad: Ct pro test mutace NPM1 = 13,2; Ct pro ABL = 5,8 je menší než „6“.

Výsledek: **NEPLATNÝ [transkript ABL je příliš vysoký] (INVALID [Too high ABL transcript]).** Viz Obrázek 10.



Obrázek 10. Okno zobrazení výsledků GeneXpert: NEPLATNÝ [transkript ABL je příliš vysoký] (INVALID [Too high ABL transcript])

16.10 CHYBA (ERROR)



Obrázek 11. Okno zobrazení výsledků GeneXpert: CHYBA (ERROR)

17 Omezení testu

- Test není určen k použití s externími kalibrátory.
- Úpravy těchto postupů mohou ovlivnit funkci testu.
- Tento produkt je určen pro použití pouze s krví odebranou do zkumavek s EDTA.
- Nepoužívejte heparin jako antikoagulant, protože může inhibovat reakci PCR.
- Vzorky typu citrát sodný, buffy-coat a kostní dřevě nebyly ověřeny.
- Při nesprávném odběru, manipulaci nebo skladování vzorků či při jejich záměně může dojít k chybným výsledkům testu. Aby se zabránilo chybným výsledkům, je nutné pečlivě dodržovat návod k použití.
- Mutace nebo polymorfismy v regionech vazby primerů nebo sond mohou ovlivnit detekci nových nebo neznámých variant, což může vést k falešně negativním výsledkům.
- Nadměrně vysoký počet bílých krvinek může způsobit zvýšení tlaku v kazetě a vést k přerušení cyklů nebo nepřesným výsledkům.
- Některé vzorky s velmi nízkými hladinami transkriptu ABL nebo s počtem leukocytů nižším než 150 000 buněk/ml mohou vykazovat **NEPLATNÝ (INVALID)** výsledek (typ 1). Neurčitý výsledek nevylučuje přítomnost velmi nízkých hladin leukemických buněk u pacienta.

18 Příručka k odstraňování problémů

Tabulka 3. Příručka k odstraňování problémů

Výsledek testu	Možné příčiny	Návrhy
NEPLATNÝ (INVALID)	Typ 1: Selhala ABL endogenní kontroly: <ul style="list-style-type: none"> • Špatná kvalita vzorku • Inhibice RT-PCR • Ct pro ABL >20 a/nebo koncový parametr <100 	<ul style="list-style-type: none"> • Zkontrolujte kvalitu vzorku (např. porušení podmínek uskladnění vzorku, včetně doby a teploty). • Zopakujte test s původním vzorkem (je-li k dispozici) nebo z uchovaného lyzátu a novou kazetou za použití postupu popsaneho v Část 19.1, Postup opakovaného testu, je-li výsledek CHYBA (ERROR) nebo NEPLATNÝ (INVALID) (typ 1).
	Typ 2: Hladinu transkriptu s mutací NPM1 nelze stanovit, protože vzorek obsahuje nadbytek transkriptů s mutací NPM1 a/nebo ABL (Ct <6).	Zopakujte test s původním vzorkem (je-li k dispozici) nebo z uchovaného lyzátu a novou kazetou za použití postupu popsaneho v Část 19.2, Postup opakovaného testu, je-li výsledek CHYBA (ERROR) (kód 2008) nebo NEPLATNÝ (INVALID) (typ 2).
CHYBA (ERROR) (kód 2008)	Tlak přesahuje hranici (chybová zpráva 2008)	<ul style="list-style-type: none"> • Zkontrolujte kvalitu vzorku • Zkontrolujte silně zvýšené hladiny leukocytů • Zopakujte test s původním vzorkem (je-li k dispozici) nebo z uchovaného lyzátu a novou kazetou za použití postupu popsaneho v Část 19.2, Postup opakovaného testu, je-li výsledek CHYBA (ERROR) (kód 2008) nebo NEPLATNÝ (INVALID) (typ 2).
CHYBA (ERROR) (kód 5006, 5007, 5008 a 5009*) *Nejedná se o plný seznam chybových kódů.	Kontrola sondy selhala	Zopakujte test s původním vzorkem (je-li k dispozici) nebo z uchovaného lyzátu a s novou kazetou za použití postupu popsaneho v Část 19.1, Postup opakovaného testu, je-li výsledek CHYBA (ERROR) nebo NEPLATNÝ (INVALID) (typ 1).
ŽÁDNÝ VÝSLEDEK (NO RESULT)	Odběr dat selhal. Například obsluha zastavila probíhající test nebo došlo k výpadku napájení.	Zopakujte test s původním vzorkem (je-li k dispozici) nebo z uchovaného lyzátu a s novou kazetou za použití postupu popsaneho v Část 19.1, Postup opakovaného testu, je-li výsledek CHYBA (ERROR) nebo NEPLATNÝ (INVALID) (typ 1).

19 Opakované testy

19.1 Postup při opakovaném testu, je-li výsledek CHYBA (ERROR) nebo NEPLATNÝ (INVALID) (typ 1)

Opakované testy vzorků s výsledkem **CHYBA (ERROR)** nebo **NEPLATNÝ (INVALID)** z toho důvodu, že prahová hodnota cyklu (Ct) pro ABL přesahuje maximální platnou hodnotu Ct (Ct >20) nebo proto, že koncový parametr je pod nastavenou hranicí (<100). Viz rovněž Část 18, Příručka k odstraňování problémů.

1. Pokud je k dispozici dostatečné množství vzorku, zopakujte test za použití původní odběrové zkumavky se vzorkem krve podle postupu v Část 12.2.

-NEBO-

Pokud je objem vzorku krve nedostatečný, lze provést opakovaný test za použití zbylého lyzátu z Část 12.2.1, krok 12.

- a. Je-li lyzát z Část 12.2.1, krok 12, skladován ve zmrazeném stavu, před použitím jej vytemperujte na pokojovou teplotu.
 - b. Ujistěte se, že je lyzát řádně promíchán tak, že jej nepřetržitě po dobu 10 vteřin promícháte vortexovou míchačkou nastavenou na maximální výkon, a poté ji na 3 minuty necháte stát, aby se usadily bublinky.
2. Přeneste 1 ml připraveného lyzátu do nové 50ml kónické zkumavky.
 3. Pro přípravu konečného lyzátu postupujte podle kroků 13–17 v Část 12.2.1.
 4. Otevřete kazetu zvednutím víka kazety a vyprázdněte veškerý obsah jedné (1) ampule promývací reagentie do komory pro promývací reagentii (s malým otvorem). Viz Obrázek 1.
 5. Napipetujte veškerý obsah připraveného vzorku do komory na vzorek (velký otvor). Viz Obrázek 1.
 6. Zavřete víko kazety. Spusťte test (viz Část 12.4, Spuštění testu).

19.2 Postup při opakovaném testu, je-li výsledek CHYBA (ERROR) (kód 2008) nebo NEPLATNÝ (INVALID) (typ 2)

Znovu otestujte vzorky s hladinami transkriptu pro mutaci NPM1 a/nebo ABL pod platnou minimální hodnotou Ct (Ct >0 a Ct <6) a/nebo když je přesažen limit tlaku. Viz rovněž Část 18, Příručka k odstraňování problémů.

1. Na dno nové 50ml kónické zkumavky přidejte 100 µl PK (proteinkinázy K).
2. Zajistěte, aby byl vzorek krve nebo zbytek lyzátu z Část 12.2, krok 12, dobře promíchán 8násobným převrácením zkumavky bezprostředně před pipetováním.
3. Do zkumavky, která již obsahuje proteinkinázu K, přidejte 250 µl vzorku krve a 3,75 ml PBS (pH 7,4, dodá uživatel), pokud je k dispozici, nebo 60 µl zbylého lyzátu z Část 12.2.1, krok 12.
 - a. Je-li lyzát z Část 12.2.1, krok 12, skladován ve zmrazeném stavu, před použitím jej vytemperujte na pokojovou teplotu.
 - b. Ujistěte se, že je lyzát řádně promíchán tak, že jej nepřetržitě po dobu 10 vteřin promícháte vortexovou míchačkou nastavenou na maximální výkon, a poté ji na 3 minuty necháte stát, aby se usadily bublinky.
4. Promíchejte vzorek ve vortexové míchačce nastavené na maximální výkon, a to nepřetržitě po dobu 3 vteřin.
5. Inkubujte při pokojové teplotě po dobu 1 minuty.
6. U opakovaného testu vzorku krve s PBS postupujte podle kroků 6-17 v Část 12.2.1, abyste získali konečný lyzát. U opakovaného testu vzorku zbylého lyzátu postupujte podle níže uvedených kroků a-g a vytvořte konečný lyzát.
 - a. Do zkumavky s opakovaně testovaným vzorkem zbylého lyzátu přidejte 2,5 ml LY.
 - b. Promíchejte vzorek ve vortexové míchačce nastavené na maximální výkon, a to nepřetržitě po dobu 10 vteřin.
 - c. Inkubujte při pokojové teplotě po dobu 5 minut.
 - d. Promíchejte vzorek ve vortexové míchačce nastavené na maximální výkon, a to nepřetržitě po dobu 10 vteřin.
 - e. Inkubujte při pokojové teplotě po dobu 5 minut.
 - f. Do stejné zkumavky přidejte 2 ml absolutního ethanolu reagenční třídy (dodá uživatel).
 - g. Promíchejte vzorek ve vortexové míchačce nastavené na maximální výkon, a to nepřetržitě po dobu 10 vteřin. Postavte stranou.
7. Otevřete kazetu zvednutím víka kazety a vyprázdněte veškerý obsah jedné (1) ampule promývací reagentie do komory pro promývací reagentii (s malým otvorem). Viz Obrázek 1.
8. Napipetujte veškerý obsah připraveného vzorku do komory na vzorek (velký otvor). Viz Obrázek 1.
9. Zavřete víko kazety. Spusťte test (viz Část 12.4, Spuštění testu).

20 Očekávané hodnoty

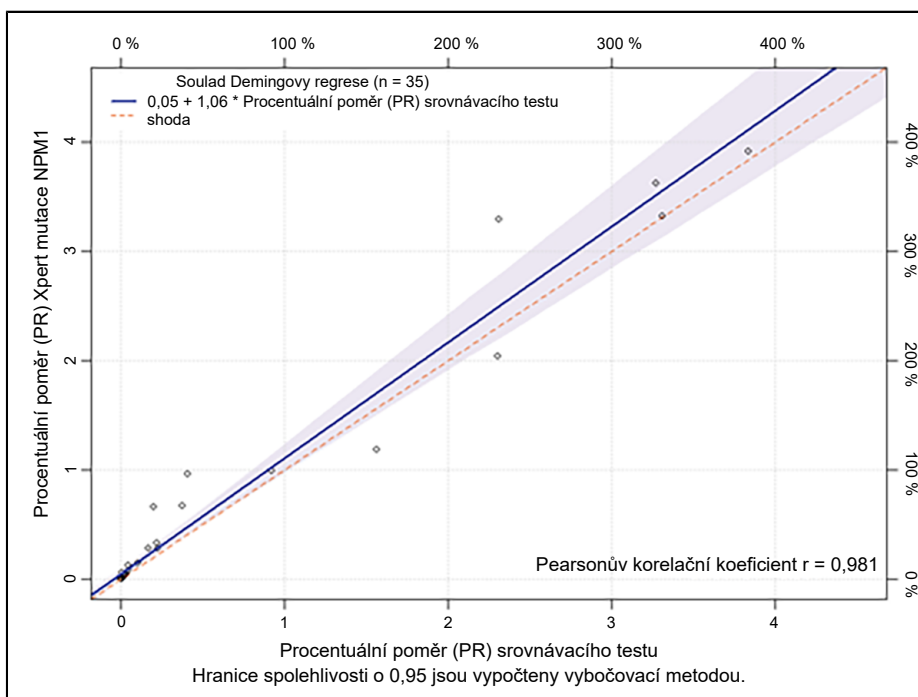
Rozsah Xpert NPM1 Mutation pokrývá klíčové body klinických rozhodnutí pro monitorování AML. Očekávané hodnoty jsou vyjádřeny jako procentuální poměr mutace NPM1 mRNA oproti ABL mRNA a jsou v rozsahu od 0,030 % do 500 %. Měření pod dolní hranici tohoto rozsahu jsou vykazována jako nedetekovaná nebo pod dolní hranicí limitu detekce (LoD). Měření nad horní hranici tohoto rozsahu jsou vykazována jako nad horní hranicí limitu kvantifikace (LoQ). Podrobnosti viz Část 15.

21 Klinická účinnost

Na třech pracovištích ve Spojených státech a na jednom pracovišti mimo Spojené státy byla provedena multicentrická srovnávací studie. Do studie byly zařazeny vzorky od 40 diskretních pacientů s AML s mutací NPM1 z jednoho časového bodu a v celém dynamickém rozsahu testu Xpert NPM1 Mutation. U pacientů, u nichž byly odebrány vzorky, byl zjišťován věk a pohlaví. Zastoupení pohlaví bylo 11 mužů (27,5 %) a 29 žen (72,5 %). Všechny vzorky byly od pacientů ve věku od 16 do 81 let o průměrném věku 59,7 let.

Všech 40 vzorků poskytlo platné výsledky testů. Třicet šest ze 40 vzorků poskytlo výsledky v kvantitativním rozmezí obou testů. Čtyři vzorky byly z Demingovy regrese vyloučeny, protože vzorky byly v testu Xpert NPM1 Mutation a/nebo ve srovnávacím testu negativní. Další vzorek byl vyloučen, protože představoval odlehlou hodnotu. Do Demingovy regresní analýzy bylo zahrnuto celkem 35 vzorků.

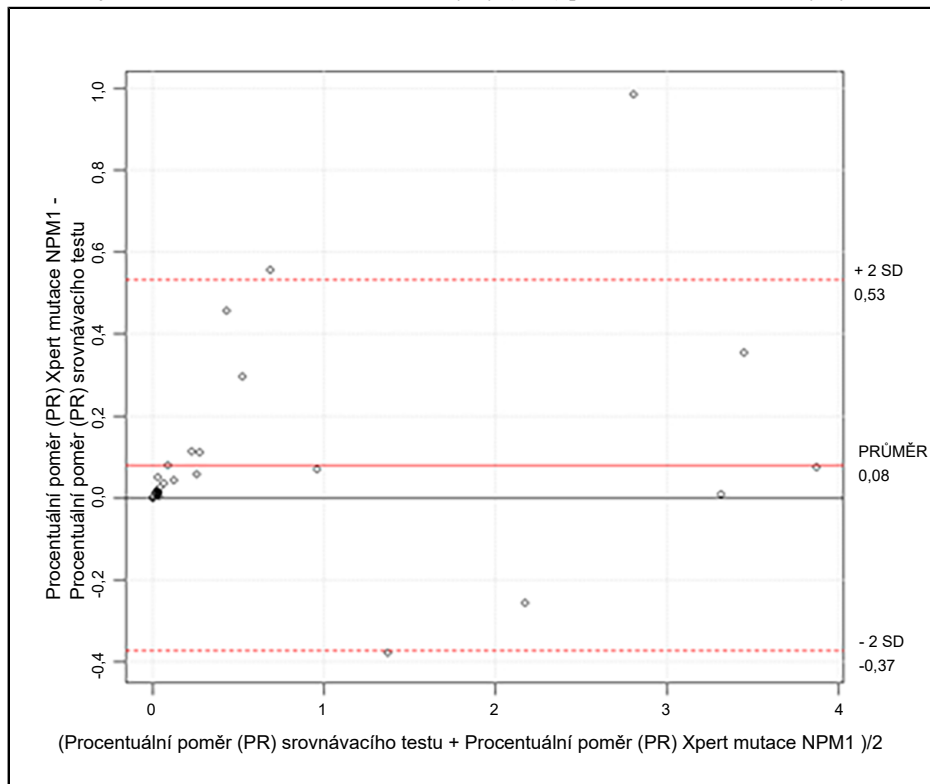
Účinnost testu Xpert NPM1 Mutation oproti srovnávacímu testu byla vyhodnocena pomocí Demingovy regrese pro určení směrnice a průsečíku. Obrázek 12 uvádí výsledky Demingovy regresní analýzy včetně směrnice, průsečíku a přímky shody u 35 vzorků. Pomocí vybočovací metody byly vypočteny 95% intervaly spolehlivosti a zobrazen Pearsonův korelační koeficient.



Obrázek 12. Demingova regrese pro procentuální poměr

Směrnice a průsečík procentuálního poměru z Demingovy regresní analýzy byly 1,06 a 0,05 a Pearsonova korelace mezi měřeními testu Xpert NPM1 Mutation a srovnávacího testu byla 0,981.

U 35 vzorků s kvantitativními výsledky, které se nacházely v lineárním rozsahu testu Xpert NPM1 Mutation a srovnávacího testu, byla vyhodnocena Bland-Altmanova analýza rozdílu v procentuálním poměru. Obrázek 13 ukazuje Bland-Altmanův graf s rozdílem v procentuálním poměru mezi oběma testy oproti průměrným výsledkům procentuálního poměru pro každý vzorek. Graf také ukazuje horní a dolní dvě směrodatné odchylky (2SD) průměrného rozdílu, který byl ve studii zjištěn.



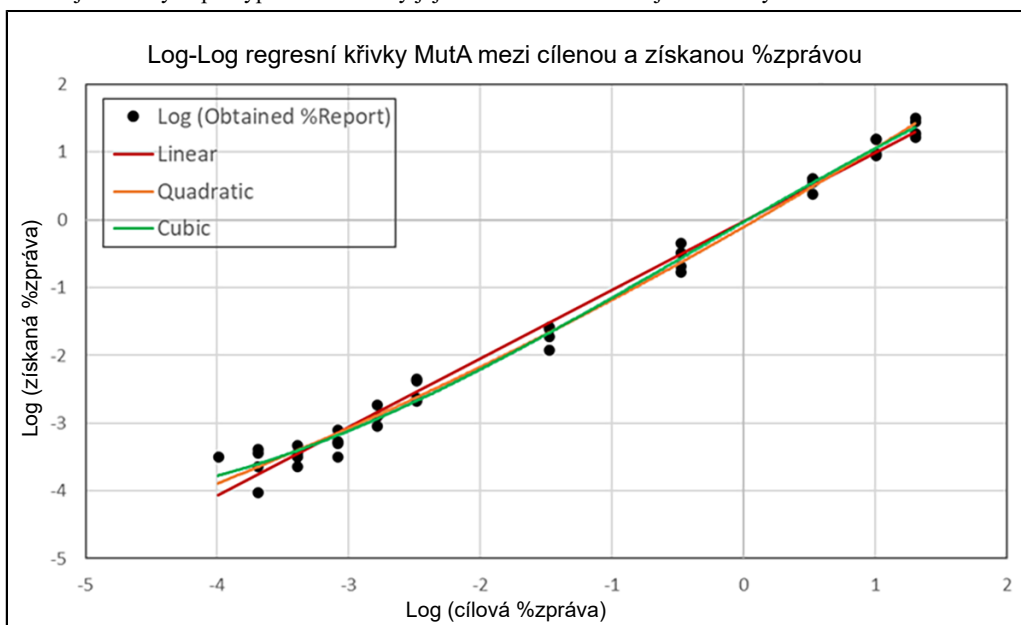
Obrázek 13. Bland-Altmanův graf pro procentuální poměr Xpert mutace NPM1 & srovnávacího testu

Průměrný rozdíl v procentuálním poměru mezi výsledkem testu Xpert NPM1 Mutation a srovnávacího testu byl 0,08. Většina výsledků (91,4 %, 32/35) se pohybovala v rámci 2SD průměrného rozdílu.

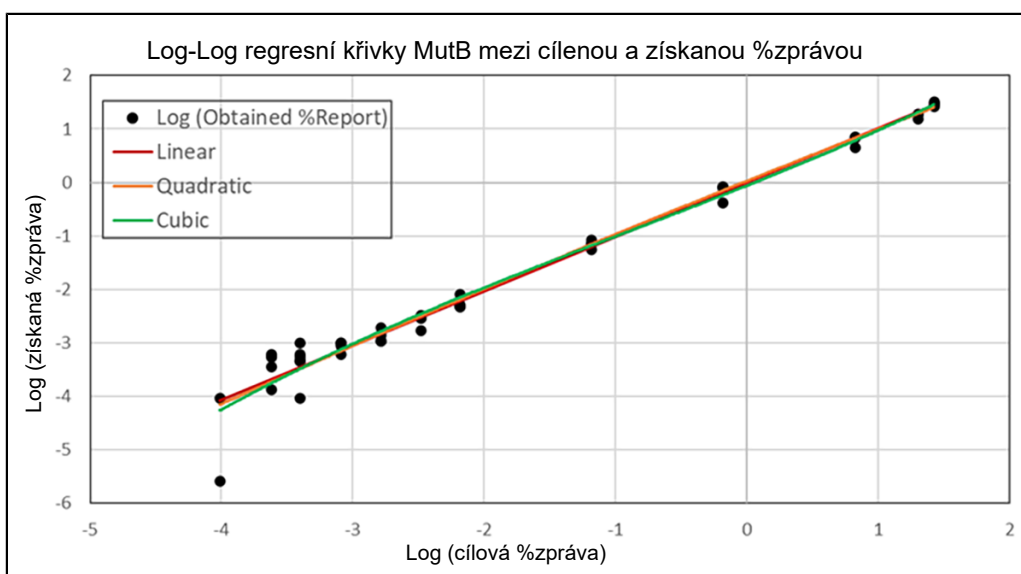
22 Analytická data

22.1 Rozsah linearity/dynamický rozsah

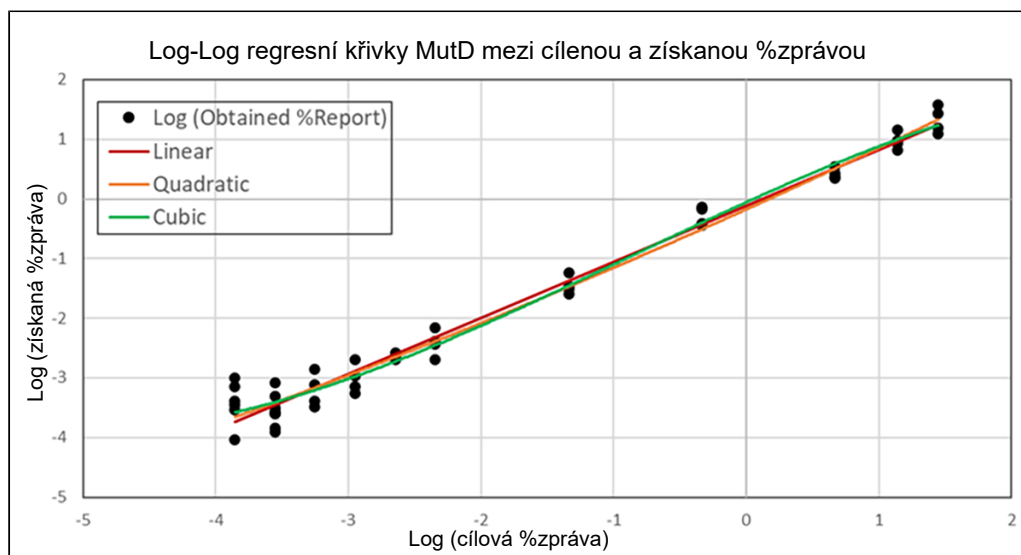
Linearita byla stanovena pro každý ze tří mutantních podtypů NPM1, mutA, mutB a mutD, za použití buněčných lysátů, které obsahují vysoké hladiny transkriptu každého podtypu. Tyto lysáty byly zředěny v základním lysátu připraveném z dárců s pravděpodobně negativní mutací NPM1 na cílové rozmezí ~0,01-2500 % mutace NPM1/ABL. Všechny hladiny koncentrací byly testovány na jedné šarži reagentie ve čtyřech opakováních. Testování a statistické analýzy byly provedeny v souladu s CLSI EP06-A⁹. Regresní křivky pro jednotlivé podtypy jsou uvedeny v Obrázek 14, Obrázek 15, a Obrázek 16. Lineární rozsah jednotlivých podtypů a koeficienty jejich lineárních modelů jsou shrnuty v Tabulka 4.



Obrázek 14. Regresní křivky pro mutA



Obrázek 15. Regresní křivky pro mutB



Obrázek 16. Regresní křivky pro mutD

Tabulka 4. Souhrn lineárních rozsahů a koeficientů lineárního modelu

Podtyp	Lineární rozsah	Průsečník	Směrnice	R ²
mutA	0,010–2020 %	-0,0223	1,0134	0,989
mutB	0,010–2673 %	-0,0061	1,0174	0,978
mutD	0,014–2783 %	-0,1163	0,9389	0,981

Souhrnně test Xpert NPM1 Mutation prokázal linearitu v rozmezí 0,014-2020 % mutace NPM1/ABL. Pokud je dynamický rozsah ohraničen hodnotou LoQ a horní mezí softwaru, jsou jeho vykazované hodnoty 0,030-500 %.

22.2 Analytická citlivost (limit detekce, limit kvantifikace, limit blanku)

Limit detekce (LoD) je nejnižší úroveň mutace NPM1/ABL, při které je 95 % vzorků konzistentně hlášeno jako „**DETEKOVÁNA mutace NPM1 [##,##%]**“, (NPM1 Mutation DETECTED [##.##%]). LoD byla stanovena jednotlivě pro podtypy mutA, mutB a mutD testováním sériových ředění buněčných lysátů pozitivních na mutaci NPM1 a klinických lysátů obsahujících každý podtyp mutace. Odpovídající LoD byly odhadnuty a ověřeny v souladu s CLSI EP17-A2¹⁰. Výsledné analýzy poskytly LoD 0,025 % pro mutA, 0,023 % pro mutB a 0,030 % pro mutD (Tabulka 5). Nejvyšší LoD ze tří podtypů o hodnotě 0,030 % je považována za celkovou LoD testu Xpert NPM1 Mutation.

Limit kvantifikace (LoQ) je nejnižší hladina mutace NPM1/ABL, nad kterou lze vzorky kvantifikovat se směrodatnou odchylkou $\leq 0,36$ snížení logu (LR) pro průměrné LR nad 3,5. V souladu s CLSI EP17-A2¹⁰ byla hodnota LoQ odhadnuta a ověřena na 0,025 % pro podtyp mutA, 0,023 % pro podtyp mutB a 0,030 % pro podtyp mutD (Tabulka 5). Nejvyšší LoQ mezi třemi podtypy o hodnotě 0,030 % je považována za celkovou LoQ testu Xpert mutace NPM1.

Limit blanku (LoB) je nejvyšší výsledek mutace NPM1/ABL, který se očekává mezi 95 % blanků od dárců s pravděpodobně negativní mutací NPM1. V souladu s CLSI EP17-A2¹⁰ byla LoB testu Xpert mutace NPM1 odhadnuta a ověřena na 0,0085 % (Tabulka 5).

Tabulka 5. Limit detekce, limit kvantifikace, limit blanku testu Xpert NPM1 Mutation [% mutace NPM1/ABL]

Podtyp	LoD [% mutace NPM1/ABL]	LoQ [% mutace NPM1/ABL]	LoB [% mutace NPM1/ABL]
mutA	0,025 %	0,025 %	0,0085 %
mutB	0,023 %	0,023 %	
mutD	0,030 %	0,030 %	

22.3 Analytická specifita

Analytická specifita testu Xpert NPM1 Mutation byla stanovena testováním vzorků periferní krve ošetřených EDTA, které byly odebrány pětadvaceti zdravým dárčům.

U žádného z předpokládaných vzorků negativních na mutaci NPM1, které byly v této studii hodnoceny, nebyl získán výsledek **DETEKOVÁNA** mutace NPM1 (NPM1 Mutation DETECTED). Test Xpert NPM1 Mutation je tedy specifický pro mutantní transkripty NPM1 mRNA (typy A, B a D v exonu 12) spojené s AML a má 100% analytickou specifitu pro vzorky periferní krve s EDTA.

22.4 Hodnocení kontaminace z přenosu

Byla provedena studie, jejímž cílem bylo prokázat, že soběstačné kazety GeneXpert na jedno použití brání v kontaminaci z přenosu z kazet, které jsou následně testovány ve stejném modulu přístroje. Vzorek s pravděpodobně negativní mutací NPM1 byl testován po vzorku s vysokou pozitivitou mutace NPM1 ve stejném modulu GeneXpert. Schéma testování bylo opakováno 10x na dvou modulech GeneXpert (celkem 22 negativních a 20 pozitivních). Všechny cykly pozitivního vzorku přinesly očekávaný výsledek „**DETEKOVÁNA mutace NPM1 [##,##%]**“ (NPM1 Mutation DETECTED [#.##%]) a všechny cykly negativních vzorků přinesly očekávaný výsledek „**NEDETEKOVÁNA mutace NPM1 [dostatečný transkript ABL]**“ (NPM1 Mutation NOT DETECTED [Sufficient ABL transcript]).

22.5 Potenciálně interferující látky

Tato studie vyhodnotila pět látek, které mohou být přítomny ve vzorcích periferní krve s EDTA a mohou potenciálně interferovat s účinností testu. Testované složky a hladiny (viz Tabulka 6) se zakládaly na pokynech v dokumentu CLSI EP07-ED3¹¹. Interferující látky byly testovány ve vzorcích periferní krve s EDTA a lyzáty kultivovaných buněk pozitivních na mutaci NPM1, které představovaly tři úrovně: >1 %, 0,1-0,5 % a negativní. Kontroly testu se skládaly ze stejných vzorků bez potenciálně interferujících látek. Každá hladina byla testována za nepřítomnosti i za přítomnosti pěti jednotlivých interferujících látek ve 4 replikátech na stav. Látka byla považována za neinterferující, pokud v její přítomnosti vypořádaný průměrný procentuální poměr vykazoval nanejvýš trojnásobný rozdíl ve srovnání s kontrolou.

U žádných interferujících látek hodnocených v této studii nebyly pozorovány žádné klinicky významné inhibiční účinky testu Xpert NPM1 Mutation. Nebyly pozorovány žádné statisticky významné rozdíly (hodnota $p = <0,05$) v žádných testovacích podmínkách a uváděné procentuální poměry mezi podmínkami testu a kontrolními podmínkami spadaly to přijatelného trojnásobného rozsahu.

Tabulka 6. Potenciálně interferující látky testované použitím Xpert NPM1 Mutation

Interferující látky	Testovaná koncentrace
Nekonjugovaný bilirubin	20 mg/dl
Cholesterol celkem	500 mg/dl
Triglyceridy celkem (lipidy)	3 000 mg/dl
Heparin	3 500 U/l
EDTA (krátký odběr)	930 mg/dl

23 Reprodukovanost a preciznost

Studie byla navržena v souladu s obecnými zásadami uvedenými ve standardu CLSI EP05-A3 pro vícefaktorové studie. Byla provedena na třech pracovištích. Design studie zahrnoval členy panelu vzorků, které zahrnovaly mutace A, B a D ve dvou koncentracích. Sedm členů panelu bylo testováno duplicitně, dva cykly denně, celkem 6 dní každým ze dvou operátorů na třech různých pracovištích (3 pracoviště × 2 operátoři × 3 šarže × 2 dny × 2 cykly × 2 replikáty = 144 výsledků testů na člena panelu). Panely reprodukovanosti a preciznosti připravila společnost Cepheid a skládají se ze sedmi členů panelu, jak je uvedeno v Tabulka 7. Panely byly vytvořeny v simulované matici periferní krve (PB) s EDTA.

Tabulka 7. Panely reprodukovanosti a preciznosti

Člen panelu	Cíl	Hladina procentuálního poměru (PR)
1	Negativní	Neuplatňuje se
2	Mutace PM1 A	Mírně pozitivní (~5 %)
3	Mutace PM1 A	Málo pozitivní (~0,2 %)
4	Mutace PM1 B	Mírně pozitivní (~5 %)
5	Mutace PM1 B	Málo pozitivní (~0,2 %)
6	Mutace PM1 D	Mírně pozitivní (~5 %)
7	Mutace PM1 D	Málo pozitivní (~0,2 %)

Počet vzorků s platnými výsledky pro každého člena panelu analyzovaného každým ze dvou operátorů na třech pracovištích je uveden v Tabulka 8.

Tabulka 8. Reprodukovanost a preciznost: Počet testů s platnými výsledky

Člen panelu		Pracoviště 1		Pracoviště 2		Pracoviště 3		Vzorků celkem			
		1. operátor	2. operátor	1. operátor	2. operátor	1. operátor	2. operátor				
1	Negativní	24/24 ^a	(24/24)	(48/48) ^a	(24/24) ^b	(24/24)	(48/48) ^b	(24/24)	(24/24)	(48/48)	(144/144)
2	LR1.3: mut A (poměr ~5 %)	(24/24)	(24/24)	(48/48)	(24/24)	(24/24)	(48/48)	(24/24)	(24/24)	(48/48)	(144/144)
3	LR2.7: mut A (poměr ~0,2 %)	(24/24)	(24/24)	(48/48)	(24/24)	(24/24)	(48/48)	(24/24)	(24/24)	(48/48)	(144/144)
4	LR1.3: mut B (poměr ~5 %)	(24/24)	(24/24)	(48/48)	(24/24)	(24/24)	(48/48)	(24/24)	(24/24)	(48/48)	(144/144)
5	LR2.7: mut B (poměr ~0,2 %)	(24/24)	(24/24)	(48/48)	(24/24)	(24/24)	(48/48)	(24/24)	(24/24)	(48/48)	(144/144)
6	LR1.3: mut D (poměr ~5 %)	(24/24)	(24/24)	(48/48)	(24/24)	(24/24)	(48/48)	(24/24)	(24/24)	(48/48)	(144/144)
7	LR2.7: mut D (poměr ~0,2 %)	(24/24)	(24/24)	(48/48)	(24/24) ^c	(24/24)	(48/48) ^c	(24/24)	(24/24)	(48/48)	(144/144)

^a Dva negativní vzorky měly platné, ale zjištěné výsledky (FP)

^b Jeden negativní vzorek měl platný, ale zjištěný výsledek (FP)

^c Jeden vzorek LR 2.7: mut D (poměr ~0,2 %) měl platný, ale nezjištěný výsledek (FN).

Kvantitativní výsledky byly analyzovány nested analýzou variance (ANOVA) s náhodnými efekty a variačním koeficientem (CV). Výsledky výpočtů ANOVA pro směrodatnou odchylku a rozptyl pro každý pozitivní vzorek jsou uvedeny v Tabulka 9. Rozptyl a procento celkového rozptylu, na kterém se podílí každá složka (pracoviště/přístroj, operátor, šarže, den, cyklus), je uveden jako SD a procentní podíl každé složky.

Tabulka 9. Výsledky z variačního koeficientu (CV): Procentní poměr (PR)

Člen panelu	N	Průměr	Pracoviště		Operátor		Šarže		Den		Cyklus		V rámci stanovení		Celkem	
			SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)
LR1.3: mut A (poměr ~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
LR2.7: mut A (poměr ~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
LR1.3: mut B (poměr ~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
LR2.7: mut B (poměr ~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
LR1.3: mut D (poměr ~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
LR2.7: mut D (poměr ~0,2 %)	143 ^a	0,2 %	0,00	10,86	0,00	0,00	0,00	12,91	0,00	6,77	0,00	0,00	0,00	22,83	0,00	29,18

^a Jeden vzorek nebyl detekován testem Xpert NPM1 a byl z analýzy vyloučen, protože u něj nebylo provedeno kvantitativní měření.

Celkový variační koeficient (CV) procenta procentuálního poměru vykazujícího kvantitativní hodnoty pro středně pozitivní vzorky LR1.3: mut A, mut B a mut D (poměr ~5 %) se pohyboval od 21,74 do 26,23 a pro málo pozitivní vzorky LR2.7: mut A, mut B a mut D (poměr ~0,2 %) se pohyboval od 20,68 do 79,22.

24 Literatura

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>. Přístupné od 16. září 2020.
4. Kunchala P, Kuravi S, Jensen R, McGuirk J, Balusu R. When the good go bad: Mutant NPM1 in acute myeloid leukemia. *Blood Rev.* 2018; 32(3): 167-183. doi:10.1016/j.blre.2017.11.001
5. Heath EM, Chan SM, Minden MD, Murphy T, Shlush LI, Schimmer AD. Biological and clinical consequences of NPM1 mutations in AML. *Leukemia.* 2017; 31(4): 798-807. doi:10.1038/leu.2017.30
6. Centers for Disease Control and Prevention. Biosafety in Microbiological and Biomedical laboratories (viz poslední vydání). <http://www.cdc.gov/biosafety/publications/>
7. Clinical and Laboratory Standards Institute. Protection of Laboratory Workers from Occupationally Acquired Infections; Approved Guideline. Dokument M29 (viz poslední vydání).
8. Zdravotnický odpad. 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, 1. vydání
10. CLSI EP17-A2:2012 Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures, 2. vydání
11. CLSI EP07-ED3:2018 Interference Testing in Clinical Chemistry, 3. vydání
12. CLSI EP05-A3:2014 Evaluation of Precision of Quantitative Measurement Procedures; Approved Guideline — 3. vydání

25 Hlavní sídla společnosti Cepheid

Podniková centrála

Cepheid
904 Caribbean Drive
Sunnyvale, CA 94089
USA

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

Evropská centrála

Cepheid Europe SAS
Vira Solelh
81470 Maurens-Scopont
France

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

26 Technická pomoc

Dříve, než kontaktujete technickou podporu společnosti Cepheid, připravte si následující informace:

- Název produktu
- Číslo šarže
- Sériové číslo přístroje
- Chybové zprávy (pokud je to relevantní)
- Verze softwaru a (pokud je to relevantní) číslo servisního štítku počítače

Spojené státy americké





















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

Francie

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

Kontaktní informace všech kanceláří technické podpory společnosti Cepheid jsou uvedeny na našem webu:
www.cepheid.com/en_US/support/contact-us.

27 Tabulka značek

Značka	Význam
	Katalogové číslo
	Označení CE – Evropská shoda
	Zdravotnický diagnostický prostředek <i>in vitro</i>
	Kód šarže
	Nepoužívat opakovaně
	Čtěte návod k použití
	Výrobce
	Země výroby
	Obsahuje dostatečné množství pro <i>n</i> testů
	Kontrola
	Datum expirace
	Teplovní limit
	Biologická rizika
	Pozor
	Hořlavé kapaliny
	Toxicita pro reprodukci a toxicita pro orgány
	Varování
	Zplnomocněný zástupce v Evropském společenství
	Zplnomocněný zástupce ve Švýcarsku
	Dovozce



Cepheid
904 Caribbean Drive
Sunnyvale, CA 94089
Spojené státy americké
Telefon: + 1 408 541 4191
Fax: + 1 408 541 4192



Cepheid Europe SAS
Vira Solelh
81470 Maurens-Scopont
Francie
Telefon: + 33 563 825 300
Fax: + 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 Historie revizí

Část	Popis změny
23	Opravena chyba v části „Reprodukovatelnost a preciznost“.