

Xpert[®] NPM1 Mutation

REF GXNPM1-CE-10

Gebruiksaanwijzing

IVD CE

Verklaringen betreffende handelsmerken, octrooien en copyright

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[®], het Cepheid-logo, GeneXpert[®] en Xpert[®] zijn handelsmerken van Cepheid, gedeponeerd in de VS en in andere landen.

Alle overige handelsmerken zijn eigendom van de betreffende eigenaren.

DE AANKOOP VAN DIT PRODUCT VERLEENT AAN DE KOPER HET NIET-OVERDRAAGBARE RECHT OM HET TE GEBRUIKEN IN OVEREENSTEMMING MET DEZE GEBRUIKSAANWIJZING. GEEN ANDERE RECHTEN WORDEN HIERBIJ OVERGEDRAGEN, HETZIJ UITDRUKKELIJK, OF STILZWIJGEND, OF VIA UITSLUITING. BOVENDIEN WORDEN ER MET DE AANKOOP VAN DIT PRODUCT GEEN RECHTEN OP WEDERVERKOOP VERLEEND.

© 2022–2023 Cepheid.

Zie Paragraaf 28, Revisiegeschiedenis voor een beschrijving van de wijzigingen.

Xpert[®] NPM1 Mutation

Voor gebruik bij *in-vitro*diagnostiek.

1 Eigendomsrechtelijk beschermde naam

Xpert[®] NPM1 Mutation

2 Gangbare of gebruikelijke naam

Xpert NPM1 Mutation

3 Beoogd doel

3.1 Beoogd gebruik

De Xpert NPM1 Mutation-test, uitgevoerd op het Cepheid GeneXpert[®] Dx System is een *in vitro* diagnostische test voor de kwantificatie van mutant NPM1-mRNA-transcripts (type A, B en D in exon 12) in perifere bloedmonsters van patiënten met acute myeloïde leukemie (AML). De test maakt gebruik van geautomatiseerde realtime reverse-transcriptase-polymerasekettingreactie (RT-PCR) en rapporteert de procentuele verhouding tussen mutante NPM1 en mRNA-transcripts van endogene ABL1-controle. De test is bedoeld als hulpmiddel bij het monitoren van patiënten met NPM1-gemuteerde AML voor het niveau van het mutante NPM1-mRNA-transcript. De test moet worden gebruikt in combinatie met andere klinisch-pathologische factoren.

De Xpert NPM1 Mutation-test maakt geen onderscheid tussen mutante NPM1-transcripts van type A, B of D en detecteert of monitort geen andere zeldzame typen van mutant-NPM1. Deze test is niet bedoeld voor het diagnosticeren van AML.

3.2 Beoogde gebruiker/omgeving

De Xpert NPM1 Mutation-test is bestemd voor gebruik door opgeleide gebruikers in een laboratoriumomgeving.

4 Samenvatting en uitleg

Acute myeloïde leukemie (AML) is kanker van de hematopoëtische stamcellen van het myeloïde bloed in het beenmerg^{1,2} en wordt gekenmerkt door verschillende nucleofosmine (NPM1) exon 12-mutaties³. De insertie van nucleotiden in exon 12 resulteert in een frameshiftmutatie en creëert een nucleair exportsignaal (NES). De mutaties in het NPM1-gen leiden tot een afwijkende cytoplasmatische lokalisatie van NPM1 en NPM1-interagerende eiwitten. NPM1 is een van de meest gemuteerde genen in AML en de mutaties komen in 28% tot 35% van alle gevallen van AML voor. Hoewel verschillende geneesmiddelen die gericht zijn tegen gemuteerd NPM1 momenteel worden onderzocht, zijn er momenteel geen door de FDA goedgekeurde gerichte therapieën beschikbaar.⁴

Het NPM1-gen codeert het nucleair shuttling-eiwit dat een rol speelt in de biologie van centrosomen en ribosomen, alsmede in de regulatie van andere cellulaire systemen, waaronder tumorsuppressorspaden. NPM1 is een nucleolair fosfoproteïne dat dienst doet als pendel tussen de nucleus en het cytoplasma. Het regelt het transport van ribosomale deeltjes door het nucleaire membraan. NPM1-mutaties werden voor het eerst ontdekt bij personen met AML nadat een abnormale cytoplasmatische locatie was waargenomen in plaats van de normale nucleaire locatie. De genetische evaluatie van leukemische blasten in combinatie met de cytoplasmatische NPM1-locatie heeft geleid tot de kennis van de bekende exon 12 frameshiftmutaties.³ De meest voorkomende NPM1-mutaties zijn van het type A (~75-80%), type B (~10%) en type D

(~5%), alle in exon 12, wat resulteert in een frameshiftmutatie door insertie van vier nucleotiden. De mutatie veroorzaakt een verlies van een nucleolair lokalisatiesignaal en een afwijkende cytoplasmatische lokalisatie van het eiwit bij AML-patiënten.⁵

5 Principe van de procedure

De Xpert NPM1 Mutation-test is een geautomatiseerde assay voor de kwantificatie van de hoeveelheid NPM1-mutatie-transcripts in verhouding tot NPM1-mutatie /ABL1. De test wordt uitgevoerd op het Cepheid GeneXpert Dx System, dat monsterzuivering, nucleïnezuuramplificatie en detectie van de targetsequentie in eenvoudige of complexe monsters met behulp van realtime RT-PCR en geneste PCR-assays automatiseert en integreert. Het systeem bestaat uit een instrument, een computer en voorgeladen software voor het uitvoeren van assays en het weergeven van de resultaten. Het systeem vereist het gebruik van GeneXpert-wegwerpcartridges voor eenmalig gebruik die de RT-PCR- en geneste-PCR-reagentia bevatten en waarin de RT-PCR- en geneste-PCR-processen plaatsvinden. Voor een volledige beschrijving van het systeem raadpleegt u de toepasselijke *GeneXpert Dx System Operator Manual*.

De Xpert NPM1 Mutation-test bevat reagentia voor de detectie van NPM1-mutatie en het ABL1-transcript als een endogene controle in perifere bloedmonsters. De hoeveelheid NPM1-mutatie-transcript wordt gekwantificeerd als de procentuele verhouding van NPM1-mutatie/ABL1. Er zijn twee controles opgenomen in de Xpert NPM1 Mutation-test – de endogene controle (ABL1) en een probecheckcontrole (PCC). De endogene ABL1-controle normaliseert het NPM1-mutatie-target en waarborgt dat er voldoende monster wordt gebruikt in de assay. De PCC verifieert de rehydratatie van reagentia, het vullen van de PCR-buis en de aanwezigheid en functionaliteit van alle reactiecomponenten in de cartridge, waaronder probes en kleurstoffen.

6 Reagentia en instrumenten

6.1 Meegeleverde materialen

De Xpert NPM1 Mutation-kit (GXNPM1-CE-10) bevat voldoende reagentia om 10 assaymonsters of kwaliteitscontrolemonsters te verwerken. De kit bevat het volgende:

Xpert NPM1 Mutation Reagentia

10 van elk per kit

Proteïnase K (PK)	10 x 130 µl per flacon
Bestanddeel	Reagens-ingrediënt
Proteïnase K	< 5%
Lysereagens (LY) (guanidiniumchloride)	10 x 5,3 ml per flacon
Bestanddeel	Reagens-ingrediënt
Guanidiniumchloride	25–50%
Urea	25–50%
Natriumdodecylsulfaat	< 2%
Wasreagens	10 x 2,9 ml per ampul
Bestanddeel	Reagens-ingrediënt
Ethanol	< 50%
Guanidinetiocyanaat	< 50%

Xpert NPM1 Mutation Cartridges met geïntegreerde reageerbuisjes		10 per kit
Bestanddeel	Reagens-ingrediënt	Hoeveelheid
Bead 1 (gevriesdroogd)	Enzym: Taq-DNA-polymerase < 50 E/bead	1 per cartridge
	dNTPs < 0,05%	
Bead 2 (gevriesdroogd)	Primers en probes < 0,005%	1 per cartridge
Bead 3 (gevriesdroogd)	Primers en probes < 0,005%	1 per cartridge
Bead 4 (gevriesdroogd)	Enzym: Taq-DNA-polymerase < 50 E/bead	1 per cartridge
	dNTPs < 0,05%	
Spoelreagens	Kaliumchloride < 4%	2 ml per cartridge
	Natriumazide < 0,1%	
	Polyethyleenglycol < 40%	
	Tween 20 < 0,2%	
Elutiereagens	Trizmabase < 0,3%	2,5 ml per cartridge
	Trizmahydrochloride < 0,1%	
	Natriumazide < 0,05%	

Cd**1 per kit**

- Assaydefinitiebestand
- Instructies voor het importeren van ADF in de GeneXpert-software
- Gebruiksaanwijzing

Opmerking

De bovine serumalbumine (BSA) in de beads in dit product is uitsluitend geproduceerd en vervaardigd uit runderplasma afkomstig uit de Verenigde Staten. Er zijn geen eiwitten van herkauwers of andere dierlijke eiwitten aan de dieren gevoerd; de dieren slaagden voor ante- en postmortale tests. Tijdens de verwerking is er geen materiaal met ander dierlijk materiaal gemengd.

Opmerking

Analysecertificaten en gegevensbladen met partijspecificaties zijn verkrijgbaar via de technische ondersteuning van Cepheid.

7 Benodigde maar niet-meegeleverde materialen

- GeneXpert Dx System (catalogusnummers zijn afhankelijk van configuratie): GeneXpert-instrument, computer, streepjescodescanner en bedieningshandleiding.
- Voor GeneXpert Dx System: GeneXpert Dx-software, versie 6,2 of hoger.
- Printer: Als een printer nodig is, kunt u contact opnemen met de technische ondersteuning van Cepheid om de aanschaf van een aanbevolen printer te regelen.
- Vortexmixer
- Microcentrifuge (minimaal 1000 x g)
- Pipetten en pipetpunten met aerosolfilter
- Conische buisjes van 50 ml
- Absolute ethanol van reagentkwaliteit
- 1X PBS, pH 7,4

8 Opslag en hantering

- Bewaar de inhoud van de Xpert NPM1 Mutation-kit bij 2 °C tot 8 °C tot de op het etiket vermelde uiterste gebruiksdatum.
- Open het deksel van een cartridge pas als u klaar bent om een test uit te voeren.

- Gebruik geen cartridges waarvan de uiterste gebruiksdatum is verstreken.
- Gebruik geen cartridges die lekkage vertonen.
- Het wasreagens is een heldere, kleurloze vloeistof. Gebruik het wasreagens niet als het troebel of verkleurd is geraakt.
- Haal twintig (20) minuten voordat u met de procedure begint het bloedmonster, de cartridge en de reagentia voor monsterpreparatie uit de opslag, zodat ze op kamertemperatuur kunnen komen (20 °C tot 30 °C).

9 Waarschuwingen en voorzorgsmaatregelen

9.1 Algemeen

- Voor gebruik bij in-vitrodiagnostiek.
- Behandel alle biologische monsters, waaronder gebruikte cartridges en reagentia, alsof ze in staat zijn infectieuze agentia over te dragen. Omdat het vaak onmogelijk is om te weten welke monsters mogelijk infectieus zijn, moeten alle biologische monsters worden gehanteerd in overeenstemming met standaardvoorzorgsmaatregelen.
- Richtlijnen voor het hanteren van monsters zijn beschikbaar bij de Amerikaanse (VS) Centers for Disease Control and Prevention⁶ en het Clinical and Laboratory Standards Institute.⁷
- Volg de door uw instelling bepaalde veiligheidsprocedures voor het werken met chemische stoffen en het hanteren van biologische monsters.
- De prestatiekenmerken van deze test zijn uitsluitend vastgesteld met bloed afgenomen in EDTA-buisjes. De werking van de assay is niet geëvalueerd met andere soorten monsters.
- Betrouwbare resultaten hangen af van adequate monsterafname, transport, opslag en verwerking. Onjuiste assayresultaten kunnen ontstaan door onjuiste afname, hantering of opslag van monsters, een technische fout, verwisseling van monsters, of doordat het target-transcript in het monster onder de detectielimiet van de assay ligt. Het is noodzakelijk dat deze gebruiksaanwijzing en de *GeneXpert Dx System Operator Manual* nauwgezet worden nageleefd om foutieve resultaten te voorkomen.
- Het uitvoeren van de Xpert NPM1 Mutation-test buiten het aanbevolen bereik voor opslagtemperatuur en -tijd van de kit of het monster kan foutieve of ongeldige resultaten opleveren.
- Biologische monsters, overbrengingshulpmiddelen en gebruikte cartridges moeten worden beschouwd alsof ze in staat zijn infectieuze agentia over te dragen en vereisen standaardvoorzorgsmaatregelen. Volg de procedures van uw instelling inzake milieufval voor de juiste afvoer van gebruikte cartridges en ongebruikte reagentia. Deze materialen kunnen kenmerken vertonen van chemisch gevaarlijk afval dat in uw land of regio op een specifieke wijze moet worden afgevoerd. Als nationale of regionale voorschriften geen duidelijke aanwijzingen geven voor de juiste afvoer, moeten biologische monsters en gebruikte cartridges worden afgevoerd volgens de richtlijnen van de Wereldgezondheidsorganisatie [World Health Organization, WHO] inzake het hanteren en afvoeren van medisch afval.⁸

9.2 Monster

- Handhaaf de juiste opslagvoorwaarden om de integriteit van het monster te waarborgen (zie Paragraaf 11, Afname en opslag van monsters). De stabiliteit van monsters onder andere dan de aanbevolen transportcondities is nog niet geëvalueerd.
- Vries EDTA-monsters van perifeer bloed niet in.
- Correcte afname, opslag en vervoer van monsters zijn essentieel voor correcte resultaten.


9.3 Test/reagens

- Vervang geen Xpert NPM1 Mutation-reagentia door andere reagentia.
- Open het deksel van de Xpert NPM1 Mutation-cartridge uitsluitend wanneer u monster en wasreagens aanbrengt.
- Een cartridge die is gevallen nadat hij uit de verpakking is genomen, mag niet worden gebruikt.
- De cartridge niet schudden. Schudden of laten vallen van de cartridge na het openen van het cartridgedeksel kan ongeldige resultaten opleveren.
- Plaats het monster-ID-etiket niet op het deksel van de cartridge of op het streepjescode-etiket op de cartridge.
- Gebruik geen cartridge waarvan het streepjescode-etiket is beschadigd.
- Gebruik geen cartridge waarvan de reactiebuis is beschadigd.
- Het wordt aangeraden om de Xpert NPM1 Mutation-cartridges op kamertemperatuur (20 °C tot 30 °C) te brengen wanneer ze worden gebruikt voor het testen.

- Iedere Xpert NPM1 Mutation-cartridge voor eenmalig gebruik wordt voor het verwerken van slechts één assay gebruikt. Verwerkte cartridges niet opnieuw gebruiken.
- Breng de volledige inhoud van één (1) ampul wasreagens over naar de wasreagenskamer. Als het wasreagens niet wordt toegevoegd, kan dit een foutief **NIET GEDETECTEERD (NOT DETECTED)** resultaat opleveren.
- Pipetpunten niet hergebruiken.
- Gebruik geen cartridges die er nat uitzien of waarvan de dekselverzegeling lijkt te zijn verbroken.
- Gebruik de Xpert NPM1 Mutation-cartridge niet als er een reagens is aangebracht in de verkeerde opening.
- Open Xpert NPM1 Mutation-cartridges niet nadat de assay is voltooid.
- Reserveer een set pipetten en reagentia exclusief voor het prepareren van monsters.
- Draag schone laboratoriumjassen en -handschoenen. Verwissel van handschoenen tussen het hanteren van elk monster door.
- Draag handschoenen in geval van gemorste monsters of gemorste controles en gebruik keukenpapier om het gemorste materiaal te absorberen. Reinig het verontreinigde oppervlak vervolgens grondig met een 1:10 verdunning van vers bereid huishoudelijk chloorbleekmiddel. De uiteindelijke werkzame chloorconcentratie moet 0,5% bedragen, ongeacht de concentratie van huishoudelijk bleekmiddel in uw land. Minimaal twee minuten contacttijd aanhouden.
- Zorg dat het werkoppervlak droog is alvorens bleekmiddelresidu met gebruik van 70% gedenatureerd ethanol te verwijderen. Laat het oppervlak volledig drogen alvorens door te gaan. Of volg de standaardprocedures van uw instelling voor een besmettingsvoerval of een voerval van gemorst materiaal. Wat apparatuur aangaat, volgt u de aanbevelingen van de fabrikant voor de ontsmetting.

10 Chemische gevaren

Opmerking De onderstaande informatie geldt voor het volledige product dat proteïnase K-, lyse-, was- en spoelreagentia bevat.

- CLP/GHS-gevaarpictogram: 
- Signaalwoord: GEVAAR
- **VN-GHS-gevarenaanduidingen**
 - Licht ontvlambare vloeistof en damp H225.
 - Veroorzaakt huidirritatie H315.
 - Veroorzaakt ernstige oogirritatie H319.
 - Kan slaperigheid of duizeligheid veroorzaken H336.
 - Veroorzaakt vermoedelijk genetische defecten H341.
- **VN-GHS-voorzorgsmaatregelen**
 - **Preventie**
 - Raadpleeg vóór gebruik het veiligheidsinformatieblad voor bijzondere instructies.
 - Alvorens te gebruiken de speciale aanwijzingen raadplegen.
 - Pas gebruiken nadat u alle veiligheidsvoorschriften gelezen en begrepen heeft.
 - Verwijderd houden van warmte/vonken/open vuur en hete oppervlakken. Niet roken.
 - In goed gesloten verpakking bewaren.
 - Nevel/damp/spray niet inademen.
 - Na het werken met dit product grondig wassen.
 - Alleen buiten of in een goed geventileerde ruimte gebruiken.
 - Beschermende handschoenen/beschermende kleding/oogbescherming/gelaatsbescherming dragen.
 - De nodige persoonlijke beschermingsuitrusting gebruiken.
 - **Respons**
 - In geval van BRAND: blussen met geschikt middel.
 - NA INADEMING: het slachtoffer in de frisse lucht brengen en laten rusten in een houding die het ademen vergemakkelijkt.
 - Bij onwel voelen een VERGIFTIGINGSCENTRUM (NL) of een ANTIGIFCENTRUM (BE) of een arts raadplegen.
 - BIJ CONTACT MET DE HUID (of het haar): verontreinigde kleding onmiddellijk uittrekken. Huid met water afspoelen/afdouchen.
 - Specifieke behandeling vereist, zie aanvullende EHBO-instructie.
 - Verontreinigde kleding uittrekken en wassen alvorens deze opnieuw te gebruiken.

- Bij huidirritatie: Een arts raadplegen.
- BIJ CONTACT MET DE OGEN: Voorzichtig afspoelen met water gedurende een aantal minuten. Contactlenzen verwijderen, indien mogelijk. Blijven spoelen.
- Bij aanhoudende oogirritatie: Een arts raadplegen.
- Na (mogelijke) blootstelling: Een arts raadplegen.
- **Opslag/Verwijdering**
 - Koel bewaren.
 - Op een goed geventileerde plaats bewaren.
 - In goed gesloten verpakking bewaren.
 - Achter slot bewaren.
 - Voer de inhoud en/of container af volgens de plaatselijke, regionale, nationale en/of internationale wet- en regelgeving.

11 Afname en opslag van monsters

- Perifere bloedmonsters moeten worden afgenomen in EDTA-buisjes volgens de richtlijnen van uw instelling. Het plasma mag niet van de cellen worden gescheiden.
- De monsters mogen vóór het testen niet langer dan 3 dagen (72 uur) worden bewaard bij 2 °C tot 8 °C.
- Juiste monsternaam en opslag van monsters zijn van cruciaal belang voor de werking van de assay. De stabiliteit van monsters onder andere dan de hieronder in Paragraaf 12, Procedure aanbevolen opslagcondities is nog niet geëvalueerd met de Xpert NPM1 Mutation-test.

12 Procedure

12.1 Voordat u begint

Haal twintig (20) minuten voordat u met de procedure begint het bloedmonster, de reagentia voor monsterpreparatie en de cartridges uit de koeling, zodat ze op kamertemperatuur kunnen komen. Centrifugeer de proteïnase K (PK) kort in een microcentrifuge.

Belangrijk Start de assay binnen 1 uur nadat het met monsterreagens behandelde monster aan de cartridge is toegevoegd.

Belangrijk Haal de cartridge uit de kartonnen verpakking voordat u het monster prepareert. (Zie Paragraaf 12.3, De cartridge gereedmaken).

12.2 Het monster voorbereiden

12.2.1 Het monster prepareren met een onbekende witte-bloedceltelling (WBC) of monsters met minder dan 30 miljoen WBC/ml

1. Breng 100 µl proteïnase K (PK) aan onder in een nieuw, geëtiketteerd conisch buisje van 50 ml.
2. Zorg dat het bloedmonster goed gemengd is door het bloedafnamebuisje direct voor het pipetteren 8 keer om te keren. Zie de instructies van de fabrikant voor het EDTA-bloedafnamebuisje.
3. Voeg 4 ml bloedmonster toe aan het buisje dat al PK bevat.
4. Meng het monster 3 seconden lang continu met een vortexmixer op de maximale instelling.
5. Incubeer 1 minuut lang bij kamertemperatuur.
6. Voeg aan hetzelfde buisje 2,5 ml lysereagens (LY) toe.

Opmerking Bewaar het resterende lysereagens om het in stap 13 weer te gebruiken.

7. Meng het monster 10 seconden lang continu met een vortexmixer op de maximale instelling.
8. Incubeer 5 minuten lang bij kamertemperatuur.
9. Meng het monster 10 seconden lang continu met een vortexmixer op de maximale instelling.

10. Incubeer 5 minuten lang bij kamertemperatuur.
11. Meng het monster door 10 maal tegen de onderkant van het buisje te tikken.
12. Breng 1 ml van het geprepareerde lysaat over naar een nieuw, geëtiketteerd conisch buisje van 50 ml.

Opmerking Overgebleven lysaat kan tot 48 uur worden bewaard bij 2 °C tot 8 °C of tot 1 maand bij -20 °C of lager.

13. Voeg aan het nieuwe conische buisje met lysaat 1,5 ml van het bewaarde LY uit stap 6 toe.
14. Meng het monster 10 seconden lang continu met een vortexmixer op de maximale instelling.
15. Incubeer 10 minuten lang bij kamertemperatuur.
16. Voeg aan hetzelfde conische buisje 2 ml absolute ethanol van reagentkwaliteit (aangeschaft door de gebruiker) toe.
17. Meng het monster 10 seconden lang continu met een vortexmixer op de maximale instelling. Zet het buisje opzij.
18. Werp overgebleven PK- of LY-reagentia weg.

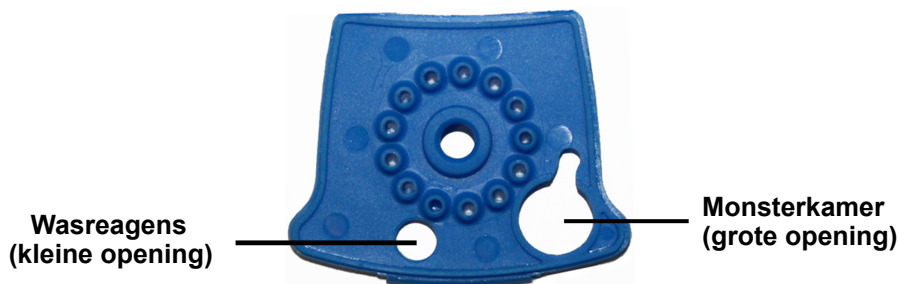
12.2.2 Het monster prepareren met een WBC-telling gelijk aan of groter dan 30 miljoen WBC/ml

1. Breng 100 µl PK aan onder in een nieuw conisch buisje van 50 ml.
2. Zorg dat het bloedmonster goed gemengd is door het bloedafnamebuisje direct voor het pipetteren 8 keer om te keren. Zie de instructies van de fabrikant voor het EDTA-bloedafnamebuisje.
3. Voeg 250 µl bloedmonster en 3,75 ml van 1xPBS (pH 7,4, aangeschaft door de gebruiker) toe aan het buisje dat al PK bevat.
4. Meng het monster 3 seconden lang continu met een vortexmixer op de maximale instelling.
5. Incubeer 1 minuut lang bij kamertemperatuur.
6. Volg stap 6-17 in Paragraaf 12.2.1 om het definitieve lysaat te maken.
7. Werp overgebleven PK- of LY-reagentia weg.

12.3 De cartridge gereedmaken

Het monster aanbrengen in de Xpert NPM1 Mutation-cartridge:

1. Haal de cartridge uit de kartonnen verpakking.
2. Inspecteer de cartridge op beschadiging. Niet gebruiken indien beschadigd.
3. Open de cartridge door het deksel op te lichten en breng de volledige inhoud van één (1) ampul met wasreagens over in de wasreagenskamer (met kleine opening). Zie Afbeelding 1.
4. Breng de volledige inhoud van het geprepareerde monster (4,5 ml) met een pipet aan in de monsterkamer (grote opening). Zie Afbeelding 1.



Afbeelding 1. Xpert NPM1 Mutation-cartridge (bovenaanzicht)

5. Sluit het deksel van de cartridge. Zorg dat het deksel stevig vastklikt. Start de assay (zie Paragraaf 12.4, De assay starten).

12.4 De assay starten

Belangrijk Voordat u de assay start, dient u te zorgen dat het systeem GeneXpert Dx-software versie 6.2 of hoger gebruikt en dat het juiste assaydefinitiebestand in de software is geïmporteerd. Deze paragraaf vermeldt de standaardstappen voor de bediening van het GeneXpert Dx System.

Opmerking De door u te volgen stappen kunnen hiervan verschillen als de systeembeheerder de standaard workflow van het systeem heeft veranderd.

1. Schakel het GeneXpert-systeem in door eerst het GeneXpert Dx-instrument en vervolgens de computer in te schakelen. De GeneXpert Dx-software start automatisch of anders moet u dubbelklikken op het snelkoppelingspictogram van de GeneXpert Dx-software op het Windows®-bureaublad.
 2. Log in op de GeneXpert-software met uw gebruikersnaam en wachtwoord.
 3. Klik in het venster **GeneXpert-systeem (GeneXpert System)** op **Test aanmaken (Create Test)** (GeneXpert Dx). Het venster **Test aanmaken (Create Test)** verschijnt.
 4. Scan of typ de Patiënt-ID (Patient ID) in. Als u typt, dient u erop te letten dat u de Patiënt-ID (Patient ID) correct typt. De Patiënt-ID (Patient ID) is gekoppeld aan de testresultaten en wordt vermeld in het venster **Resultaten weergeven (View Results)** en in alle rapporten. Het dialoogvenster **Barcode monsternummer scannen (Scan Sample ID Barcode)** verschijnt.
 5. Scan de Monster-ID (Sample ID) of typ hem in. Als u de Monster-ID (Sample ID) typt, moet u erop letten dat u de Monster-ID (Sample ID) correct typt. De Monster-ID (Sample ID) wordt weergegeven aan de linkerkant van het venster **Resultaten weergeven (View Results)** en op alle verslagen. Het dialoogvenster **Barcode cartridge scannen (Scan Cartridge Barcode)** verschijnt.
 6. Scan de barcode van de Xpert NPM1 Mutation-cartridge. De software maakt gebruik van de barcode-informatie om de vakken voor de volgende velden automatisch in te vullen: Reagenspartijnummer (Reagent Lot ID), serienummer van de cartridge (Cartridge SN) en Vervaldatum (Expiration Date).
-

Opmerking Als scannen van de barcode op de Xpert NPM1 Mutation-cartridge niet lukt, herhaalt u de assay met een nieuwe cartridge. Als u de barcode van de cartridge in de software hebt gescand en het assaydefinitiebestand niet beschikbaar is, verschijnt er een scherm dat aangeeft dat het assaydefinitiebestand niet in het systeem is geladen. Als dit scherm verschijnt, neemt u contact op met de technische ondersteuning van Cepheid.

7. Klik op **Test starten (Start Test)**. Mogelijk moet u uw wachtwoord intypen in het dialoogvenster dat verschijnt.
 8. Open de instrumentmoduledeur met het groene knipperlicht en laad de cartridge.
 9. Sluit de deur. De test start en het groene lichtje houdt op met knipperen. Als de assay is voltooid, gaat het lichtje uit.
 10. Wacht tot het systeem de deur ontgrendelt, voor u de moduledeur opent en de cartridge uitneemt.
 11. Voer gebruikte cartridges af in de daarvoor bestemde bak voor monsterafval in overeenstemming met de standaardpraktijken van uw instelling.
-

Opmerking De tijd tot het resultaat bedraagt minder dan 3 uur (ongeveer 30 minuten monstervoorbereiding buiten het apparaat en minder dan 2,5 uur assay-uitvoertijd).

13 Resultaten weergeven en afdrucken

Deze rubriek omvat de elementaire stappen voor het weergeven en afdrucken van resultaten. Zie de *GeneXpert Dx System Operator Manual* voor meer uitgebreide instructies over het weergeven en afdrucken van de resultaten.

- Klik op het pictogram **Resultaten weergeven (View Results)** om de resultaten te bekijken.
- Na voltooiën van de test klikt u op de knop **Verslag (Report)** in het scherm **Resultaten weergeven (View Results)** om resultaten te bekijken en/of een pdf-bestand van het verslag te genereren.

14 Kwaliteitscontrole

Elke cartridge bevat een endogene ABL1-controle en een probecheckcontrole (PCC).

Endogene ABL1-controle – De endogene ABL1-controle verifieert dat er voldoende monster wordt gebruikt bij de assay. Daarnaast detecteert deze controle remming van realtime PCR-test in verband met het monster. De ABL1 slaagt als hij voldoet aan de toegewezen acceptatiecriteria.

Probecheckcontrole (PCC) – Vóór de aanvang van de PCR-reactie meet het GeneXpert-systeem het fluorescentiesignaal afkomstig van de probes om rehydratie van de beads, het vullen van de reactiebuis en de functionaliteit van alle reactiecomponenten in de cartridge te controleren. De PCC slaagt als hij voldoet aan de toegewezen acceptatiecriteria.

15 Interpretatie van de resultaten

De resultaten worden automatisch door het GeneXpert-systeem geïnterpreteerd aan de hand van fluorescerende signalen en ingebelde berekeningsalgoritmen, en worden weergegeven in het venster Resultaten weergeven (View Results). De mogelijke resultaten en interpretaties worden weergegeven in Tabel 1.

Tabel 1. Xpert NPM1 Mutation-testresultaten en interpretatie

Resultaat	Interpretatie
NPM1-mutatie GEDETECTEERD (NPM1 Mutation DETECTED) Zie Afbeelding 2, Afbeelding 3, Afbeelding 4	Er is NPM1-mutatie-transcript gedetecteerd. <ul style="list-style-type: none"> NPM1-mutatie GEDETECTEERD (NPM1 Mutation DETECTED); er is NPM1-mutatie-transcript gedetecteerd met een cyclus-threshold (Ct) binnen het geldige bereik en een eindpunt boven de drempelinstelling. Mogelijke gedetecteerde resultaten: <ul style="list-style-type: none"> NPM1-MUTATIE GEDETECTEERD [#;##%] (NPM1 MUTATION DETECTED [#;##%]); Afbeelding 2. NPM1-MUTATIE GEDETECTEERD [boven bovenste LoQ] (NPM1 MUTATION DETECTED [Above upper LoQ]); Afbeelding 3. NPM1-MUTATIE GEDETECTEERD [onder LoD; < #;###%] (NPM1 MUTATION DETECTED [Below LoD; <#;###%]); Afbeelding 4. ABL GESLAAGD (PASS); er is ABL-transcript gedetecteerd met een cyclus-threshold (Ct) binnen het geldige bereik en een eindpunt boven de drempelinstelling. Probecheck GESLAAGD (PASS); alle probecheckresultaten zijn geslaagd.
NPM1-mutatie NIET GEDETECTEERD (NPM1 Mutation NOT DETECTED) Zie Afbeelding 5	NPM1-mutatie-transcript is niet gedetecteerd. <ul style="list-style-type: none"> NPM1-mutatie NIET GEDETECTEERD (NPM1 Mutation NOT DETECTED); er is geen NPM1-mutatie-transcript gedetecteerd met een cyclus-threshold (Ct) van nul of boven het bovenste punt van het geldige bereik, en/of een eindpunt onder de drempelinstelling. ABL GESLAAGD (PASS); er is ABL-transcript gedetecteerd met een cyclus-threshold (Ct) binnen het geldige bereik en een eindpunt boven de drempelinstelling. Probecheck GESLAAGD (PASS); alle probecheckresultaten zijn geslaagd.
ONGELDIG (INVALID) Raadpleegt u Afbeelding 6, Afbeelding 7, Afbeelding 8, Afbeelding 9, Afbeelding 10	Niveau van NPM1-mutatie-transcript kan niet worden bepaald doordat het monster overmatig veel NPM1-mutatie-transcript en/of overmatig veel of onvoldoende ABL-transcript bevat. Zie Paragraaf 18, Probleemoplossingsgids, voor aanvullende instructies voor het opnieuw testen van het monster. <ul style="list-style-type: none"> NPM1-mutatie ONGELDIG (NPM1 Mutation INVALID); NPM1 cyclus-threshold (Ct) was hoger dan nul en onder het onderste punt van het geldige bereik (Afbeelding 8, Afbeelding 9) ABL NIET GESLAAGD (FAIL); de ABL cyclus-threshold (Ct) lag niet binnen het geldige bereik of het eindpunt lag onder de drempelinstelling (Afbeelding 6, Afbeelding 7, Afbeelding 8, Afbeelding 10) Probecheck – GESLAAGD (PASS); alle probecheckresultaten zijn geslaagd.
FOUT (ERROR) Zie Afbeelding 11	Niveau van NPM1-mutatie-transcript kan niet worden bepaald. Zie Paragraaf 18, Probleemoplossingsgids, voor aanvullende instructies voor het opnieuw testen van het monster. <ul style="list-style-type: none"> NPM1-mutatie GEEN RESULTAAT (NO RESULT) ABL GEEN RESULTAAT (NO RESULT) Probecheck NIET GESLAAGD (FAIL); één of alle probecheckresultaten niet geslaagd. Probecheck GESLAAGD (PASS) of N.v.t. (NA) (niet van toepassing) en Wegvallen druk (Pressure Abort)*. <p>*Als de probecheck is geslaagd, werd de fout veroorzaakt doordat de maximale druklimiet het aanvaardbare bereik heeft overschreden of een systeemcomponent defect is.</p>
GEEN RESULTAAT (NO RESULT)	Niveau van NPM1-mutatie-transcript kan niet worden bepaald. Er zijn onvoldoende gegevens verzameld om een assayresultaat te kunnen geven. Dit kan bijvoorbeeld optreden als de operator is gestopt met een assay die aan de gang was. Zie Paragraaf 18, Probleemoplossingsgids, voor aanvullende instructies voor het opnieuw testen van de monsters. <ul style="list-style-type: none"> NPM1-mutatie GEEN RESULTAAT (NO RESULT) ABL GEEN RESULTAAT (NO RESULT) Probecheck n.v.t. (NA) (niet van toepassing)

16 Kwantitatieve resultaten

De kwantitatieve outputs van Xpert NPM1 Mutation worden verstrekt als een procentuele verhouding van NPM1-mutatie/ ABL1. Aan de kits worden partijspecifieke waarden voor de efficiëntie ($E_{\Delta Ct}$) en de schaalfactor (SF) toegekend, die de kwantificatie van NPM1-mutatie (A, B en D) en ABL1-transcripts koppelen aan het aantal kopieën die bestaan uit de primaire normen van *in vitro* getranscribeerd RNA (IVT-RNA) van synthetische NPM1-mutatie en ABL1.

Tabel 2. Voorbeelden van Xpert NPM1 Mutation-testresultaten

Assay	NPM1-mutant		ABL		Xpert NPM1 Mutation Testresultaten	Opmerkingen
	Ct	Resultaat ^a	Ct	Resultaat ^a		
1	5,2	ONGELDIG (INVALID)	5,8	NIET GESLAAGD (FAIL)	ONGELDIG [NPM1-mutatie en ABL-transcripts te hoog] (INVALID [Too high NPM1 Mutation and ABL transcripts])	n.v.t.
2	9	ONGELDIG (INVALID)	5,5	NIET GESLAAGD (FAIL)	ONGELDIG [ABL-transcripts te hoog] (INVALID [Too high ABL transcripts])	n.v.t.
3	5,5	ONGELDIG (INVALID)	8,5	GESLAAGD (PASS)	ONGELDIG [NPM1-mutatie-transcripts te hoog] (INVALID [Too high NPM1 Mutation transcripts])	n.v.t.
4	25,0	ONGELDIG (INVALID)	21,8	NIET GESLAAGD (FAIL)	ONGELDIG [onvoldoende ABL-transcript] (INVALID [Insufficient ABL transcript])	n.v.t.
5	0	ONGELDIG (INVALID)	0	NIET GESLAAGD (FAIL)	ONGELDIG [geen ABL-transcript] (INVALID [No ABL transcript])	n.v.t.
6	8,5	POS	13,6	GESLAAGD (PASS)	NPM1-mutatie GEDETECTEERD [boven bovenste LoQ] (NPM1 Mutation DETECTED [Above upper LoQ])	n.v.t.
7	22,5	POS	14,8	GESLAAGD (PASS)	NPM1-mutatie GEDETECTEERD [1,05%] (NPM1 Mutation DETECTED [1.05%])	Gerapporteerde waarde: 1,05%
8	27,9	POS	14,0	GESLAAGD (PASS)	NPM1-mutatie GEDETECTEERD [onder LoD; < 0,030%] (NPM1 Mutation DETECTED [Below LoD; <0.030%])	n.v.t.
9	0	NEG	14,6	GESLAAGD (PASS)	NEGATIEF [voldoende ABL-transcript] (NEGATIVE [Sufficient ABL transcript])	n.v.t.
10	0	GEEN RESULTAAT (NO RESULT)	0	GEEN RESULTAAT (NO RESULT)	FOUT (ERROR)	Bijvoorbeeld, Fout 5017 [ABL] probecheck mislukt (Error 5017 [ABL] probe check failed)

^a Zie het tabblad Analytresultaten (Analyte Results) in de GeneXpert Dx-systeemsoftware voor de details.

16.1 NPM1-mutatie GEDETECTEERD [#,##]% (NPM1 Mutation DETECTED [#,##]%)

NPM1-mutatie is gedetecteerd op een niveau van #,##%.

Voor een resultaat “NPM1-mutatie GEDETECTEERD [#,##%] (NPM1 Mutation DETECTED [#,##%])” is NPM1-mutatie detecteerbaar met NPM1-mutatie Ct groter dan of gelijk aan “6” en kleiner dan of gelijk aan “32”, en ABL Ct groter dan of gelijk aan “6” en kleiner dan of gelijk aan “20”. De GeneXpert-software berekent het % met behulp van de volgende vergelijking, waarbij de ΔCt -waarde (delta Ct) wordt verkregen uit de ABL Ct min de NPM1-mutatie Ct:

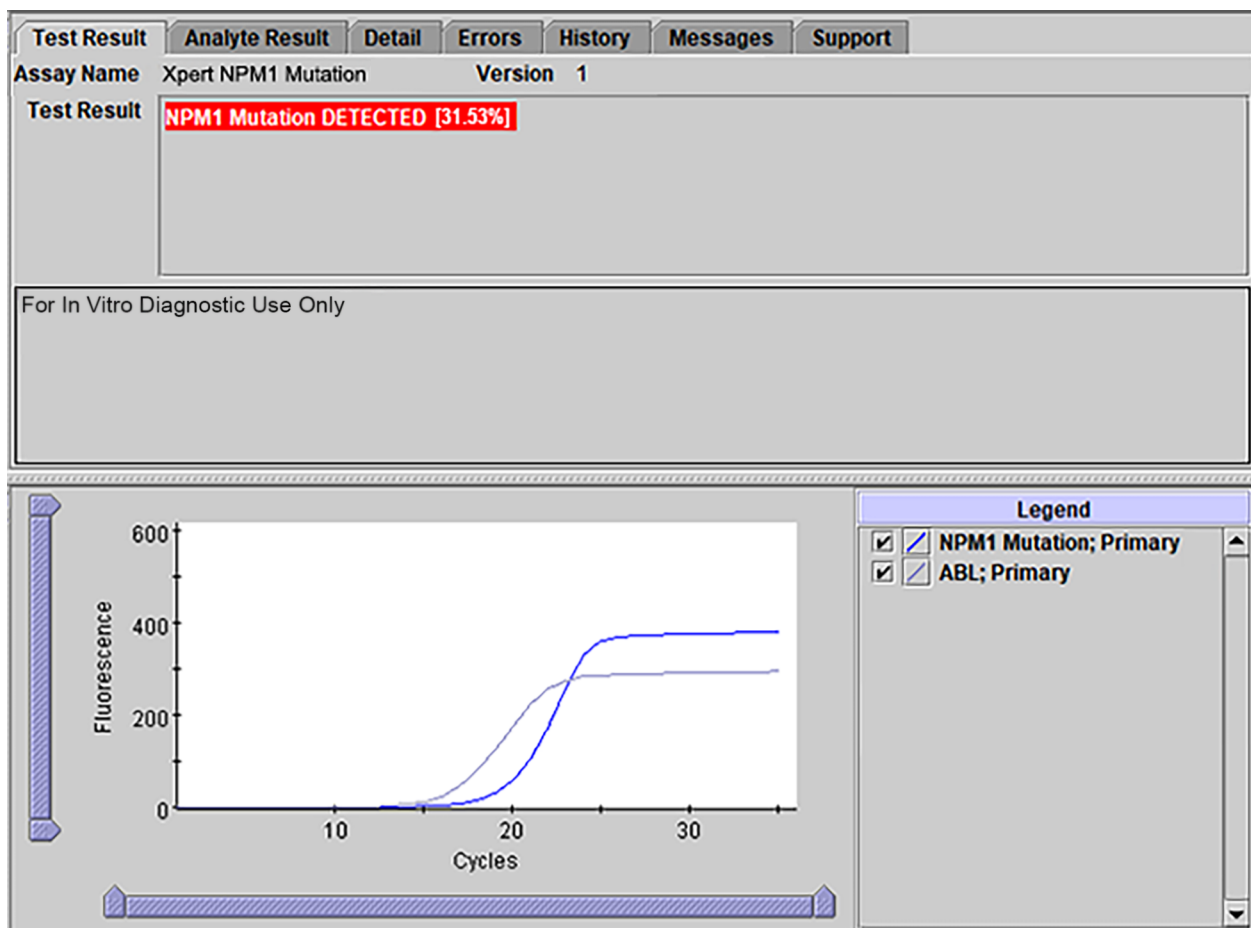
$$\% = E_{\Delta Ct}^{(\Delta Ct)} \times 100 \times \text{schaalfactor}$$

Opmerking

De schaaftactor (SF) is een partijspecifieke parameter die in de barcode van de assaycartridge is ingebed. De waarde van deze factor en de partijspecifieke efficiëntie van de assay ($E_{\Delta Ct}$) worden bepaald in kwaliteitscontroletests van elke assaypartij, waarbij primaire normen worden gebruikt die zijn geijkt op basis van de aantallen kopieën die bestaan uit *in vitro* getranscribeerd RNA (IVT-RNA) van synthetische NPM1-mutatie en ABL1 voor de kwantificatie van NPM1-mutatie-transcript. De $E_{\Delta Ct}$ is ingesteld op 1,95 en SF -waarde is ingesteld op 1,79 voor gebruik in het hier getoonde voorbeeld.

Voorbeeld: Partijspecifieke $E_{\Delta Ct} = 1,95$; $SF = 1,79$
 ABL Ct van de assay = 14,5; NPM1-mutatie Ct = 17,1; $\Delta Ct = -2,6$
 $\% = 1,95^{(-2,6)} \times 100 \times 1,79 = 31,53\%$

Resultaat: NPM1-mutatie GEDETECTEERD [31,53%] (NPM1 Mutation DETECTED [31.53%]). Zie Afbeelding 2.



Afbeelding 2. GeneXpert DxVenster Resultaten bekijken van : NPM1-mutatie GEDETECTEERD [31,53%] (NPM1 Mutation DETECTED [31.53%])

16.2 NPM1-mutatie GEDETECTEERD [boven bovenste LoQ] (NPM1 Mutation DETECTED [Above upper LoQ])

NPM1-mutatie is gedetecteerd op een niveau van > 500%.

Voor een resultaat “**NPM1-mutatie GEDETECTEERD [boven bovenste LoQ] (NPM1 Mutation DETECTED [Above upper LoQ])**” is NPM1-mutatie detecteerbaar met NPM1-mutatie Ct groter dan of gelijk aan “6” en kleiner dan of gelijk aan “32”, en ABL Ct groter dan of gelijk aan “6” en kleiner dan of gelijk aan “20”. De GeneXpert-software berekent het % met behulp van de volgende vergelijking, waarbij de ΔCt -waarde (delta Ct) wordt verkregen uit de ABL Ct min de NPM1-mutatie Ct:

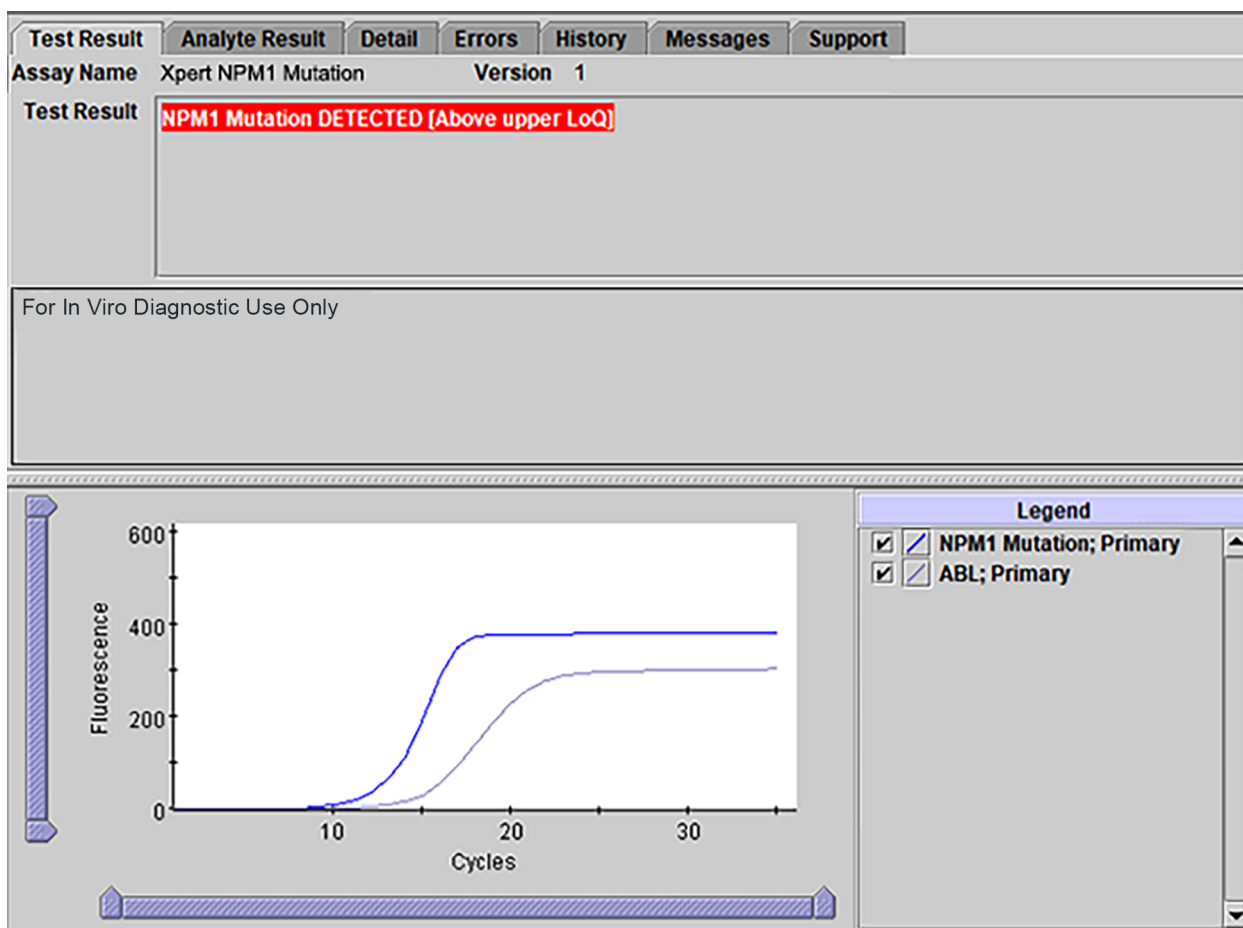
$$\% = E_{\Delta Ct}^{(\Delta Ct)} \times 100 \times \text{schaalfactor (SF)}$$

De schaalfactor (SF) is een partijspecifieke parameter die in de barcode van de assaycartridge is ingebed. De waarde van deze factor en de partijspecifieke efficiëntie van de assay ($E_{\Delta Ct}$) worden bepaald in kwaliteitscontroletests van elke assaypartij, waarbij primaire normen worden gebruikt die zijn geijkt op basis van de aantallen kopieën die bestaan uit *in vitro* getranscribeerd RNA (IVT-RNA) van synthetische NPM1-mutatie en ABL1 voor de kwantificatie van NPM1-mutatie-transcript. De $E_{\Delta Ct}$ is ingesteld op 1,95 en SF-waarde is ingesteld op 1,79 voor gebruik in het hier getoonde voorbeeld.

Opmerking

Voorbeeld: Partijspecifieke $E_{\Delta Ct} = 1,95$; $SF = 1,79$
 ABL Ct van de assay = 13,4; NPM1-mutatie Ct = 10,2; $\Delta Ct = 3,2$
 $\% = 1,95^{(3,2)} \times 100 \times 1,79 = 1516,92\%$ is groter dan de gedefinieerde bovenste LoQ van de assay van 500%

Resultaat: **NPM1-mutatie GEDETECTEERD [boven bovenste LoQ] (NPM1 Mutation DETECTED [Above upper LoQ])**. Zie Afbeelding 3.



Afbeelding 3. GeneXpert DxVenster Resultaten bekijken van : NPM1-mutatie GEDETECTEERD [boven bovenste LoQ] (NPM1 Mutation DETECTED [Above upper LoQ])

16.3 NPM1-mutatie GEDETECTEERD [onder LoD; < 0,030%] (NPM1 Mutation DETECTED [Below LoD; <0.030%])

NPM1-mutatie is gedetecteerd op een niveau van < 0,030%.

Voor een resultaat “**NPM1-mutatie GEDETECTEERD [onder LoD; < 0,030%] (NPM1 Mutation DETECTED [Below LoD; <0.030%])**” is NPM1-mutatie detecteerbaar met NPM1-mutatie Ct groter dan of gelijk aan “6” en kleiner dan of gelijk aan “32”, en ABL Ct groter dan of gelijk aan “6” en kleiner dan of gelijk aan “20”. De GeneXpert-software berekent het % met behulp van de volgende vergelijking, waarbij de ΔCt -waarde (delta Ct) wordt verkregen uit de ABL Ct min de NPM1-mutatie Ct:

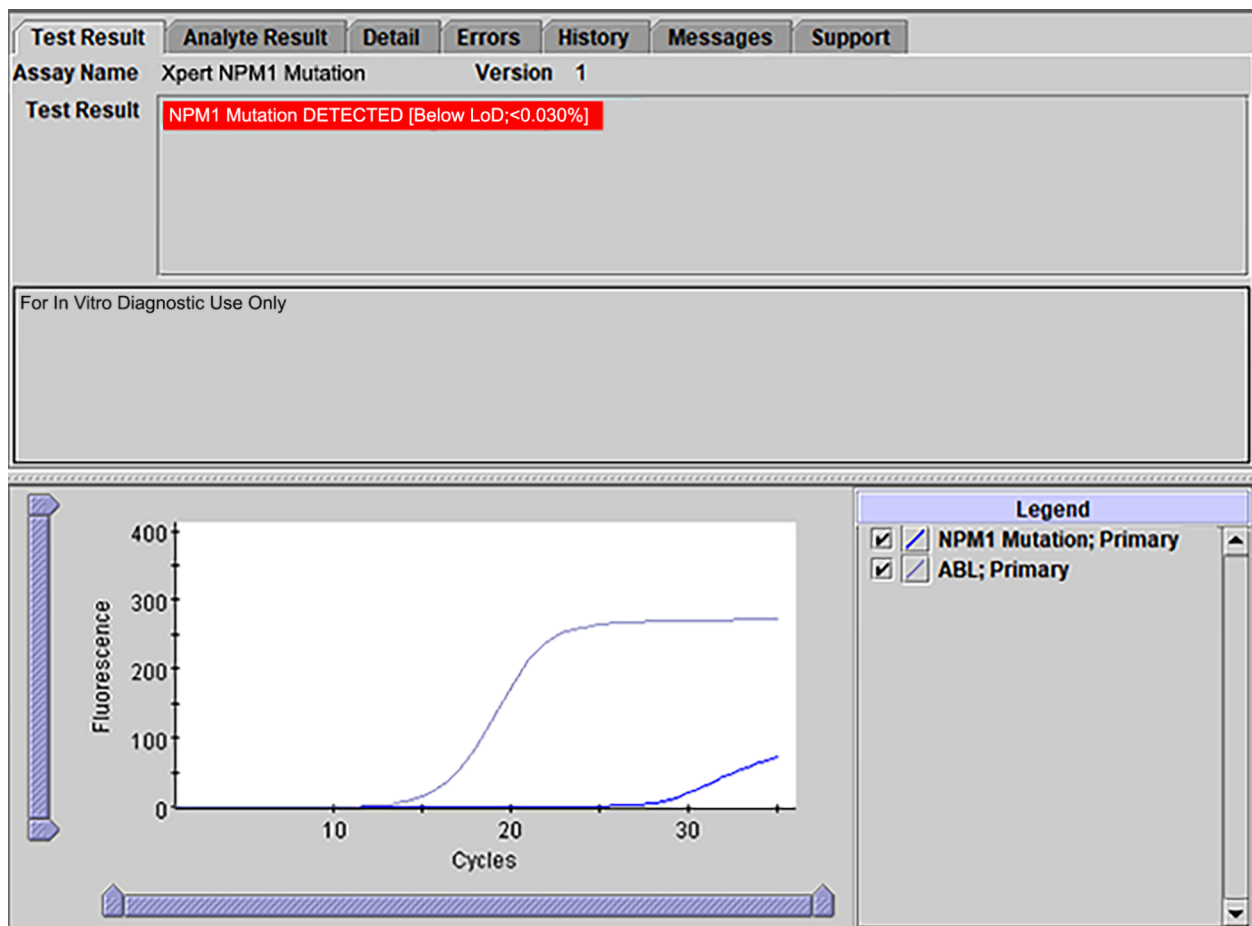
$$\% = E_{\Delta Ct}^{(\Delta Ct)} \times 100 \times \text{schaalfactor (SF)}$$

De schaalfactor (SF) is een partijspecifieke parameter die in de barcode van de assaycartridge is ingebed. De waarde van deze factor en de partijspecifieke efficiëntie van de assay ($E_{\Delta Ct}$) worden bepaald in kwaliteitscontroletests van elke assaypartij, waarbij primaire normen worden gebruikt die zijn geïkht op basis van de aantallen kopieën die bestaan uit *in vitro* getranscribeerd RNA (IVT-RNA) van synthetische NPM1-mutatie en ABL1 voor de kwantificatie van NPM1-mutatie-transcript. De $E_{\Delta Ct}$ is ingesteld op 1,95 en SF-waarde is ingesteld op 1,79 voor gebruik in het hier getoonde voorbeeld.

Opmerking

Voorbeeld: Partijspecifieke $E_{\Delta Ct} = 1,95$; $SF = 1,79$
 ABL Ct van de assay = 14,3; NPM1-mutatie Ct = 28,8; $\Delta Ct = -14,5$
 $\% = 1,95^{(-14,5)} \times 100 \times 1,79 = 0,011\%$ is kleiner dan de gedefinieerde LoD van de assay van 0,030%

Resultaat: **NPM1-mutatie GEDETECTEERD [onder LoD; < 0,030%] (NPM1 Mutation DETECTED [Below LoD; <0.030%])**. Zie Afbeelding 4.



Afbeelding 4. GeneXpert venster Resultaten weergeven (View Results): NPM1-mutatie GEDETECTEERD [onder LoD; < 0,030%] (NPM1 Mutation DETECTED [Below LoD; <0.030%])

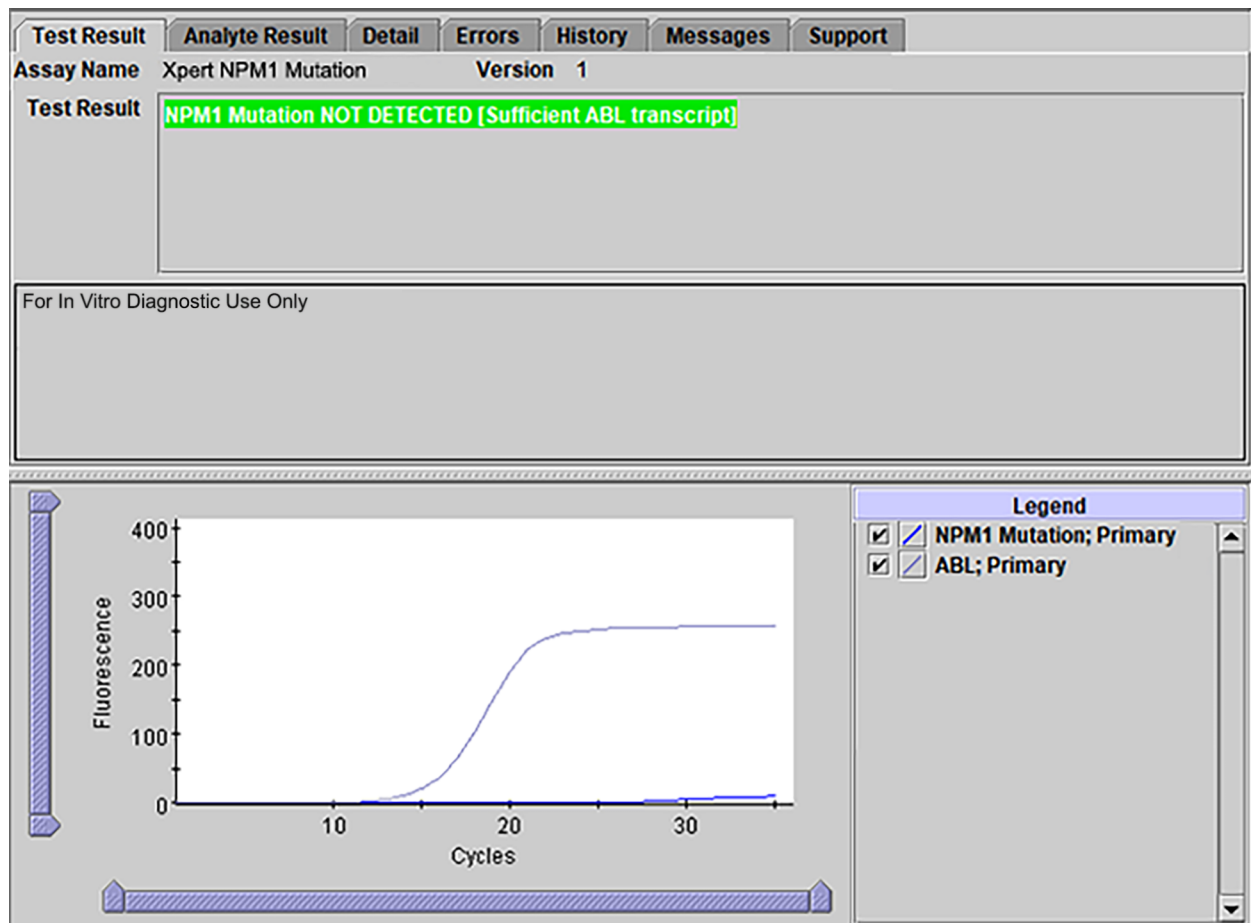
16.4 NPM1-mutatie NIET GEDETECTEERD [voldoende ABL-transcript] (NPM1 Mutation NOT DETECTED [Sufficient ABL transcript])

NPM1-mutatie is niet gedetecteerd met NPM1 Ct gelijk aan “0” en of groter dan “32”, en ABL Ct groter dan “6” en kleiner dan of gelijk aan “20”.

De GeneXpert-software vereist dat de ABL Ct voor de Xpert NPM1 Mutation-test groter dan of gelijk aan “6” en kleiner dan of gelijk aan “20” is om ervan verzekerd te zijn dat er “Voldoende ABL-transcript (Sufficient ABL transcript)” is. Zie Paragraaf 15, Interpretatie van de resultaten, Tabel 1.

Voorbeeld: NPM1-mutatie Ct van de assay = 0; ABL Ct = 14,0 ligt tussen “6” en “20”.

Resultaat: **NPM1-mutatie NIET GEDETECTEERD [voldoende ABL-transcript] (NPM1 Mutation NOT DETECTED [Sufficient ABL transcript]).** Zie Afbeelding 5.



Afbeelding 5. GeneXpert venster Resultaten weergeven (View Results): NPM1-mutatie NIET GEDETECTEERD [voldoende ABL-transcript] (NPM1 Mutation NOT DETECTED [Sufficient ABL transcript])

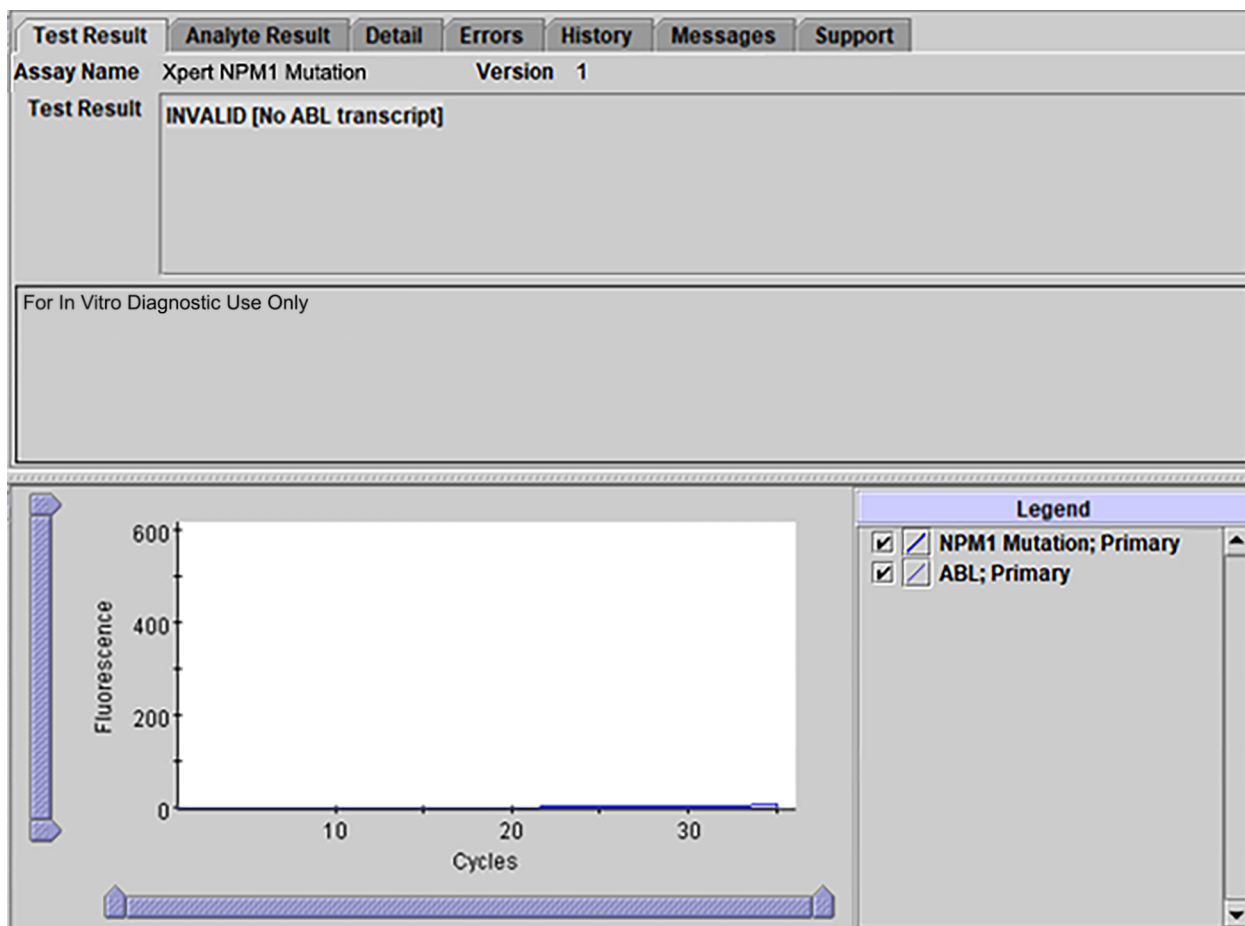
16.5 ONGELDIG [geen ABL-transcript] (INVALID [No ABL transcript])

NPM1-mutatie is gedetecteerd of niet gedetecteerd met ABL Ct gelijk aan “0”.

De GeneXpert-software vereist dat de ABL Ct voor de Xpert NPM1 Mutation-test groter dan of gelijk aan “6” en kleiner dan of gelijk aan “20” is om ervan verzekerd te zijn dat er “Voldoende ABL-transcript (Sufficient ABL transcript)” is. Zie Paragraaf 18, Probleemoplossingsgids.

Voorbeeld: NPM1-mutatie Ct van de assay = 0; ABL Ct = 0.

Resultaat: **ONGELDIG [geen ABL-transcript] (INVALID [No ABL transcript])**. Zie Afbeelding 6.



Afbeelding 6. GeneXpert venster Resultaten weergeven (View Results):
ONGELDIG [geen ABL-transcript] (INVALID [No ABL transcript])

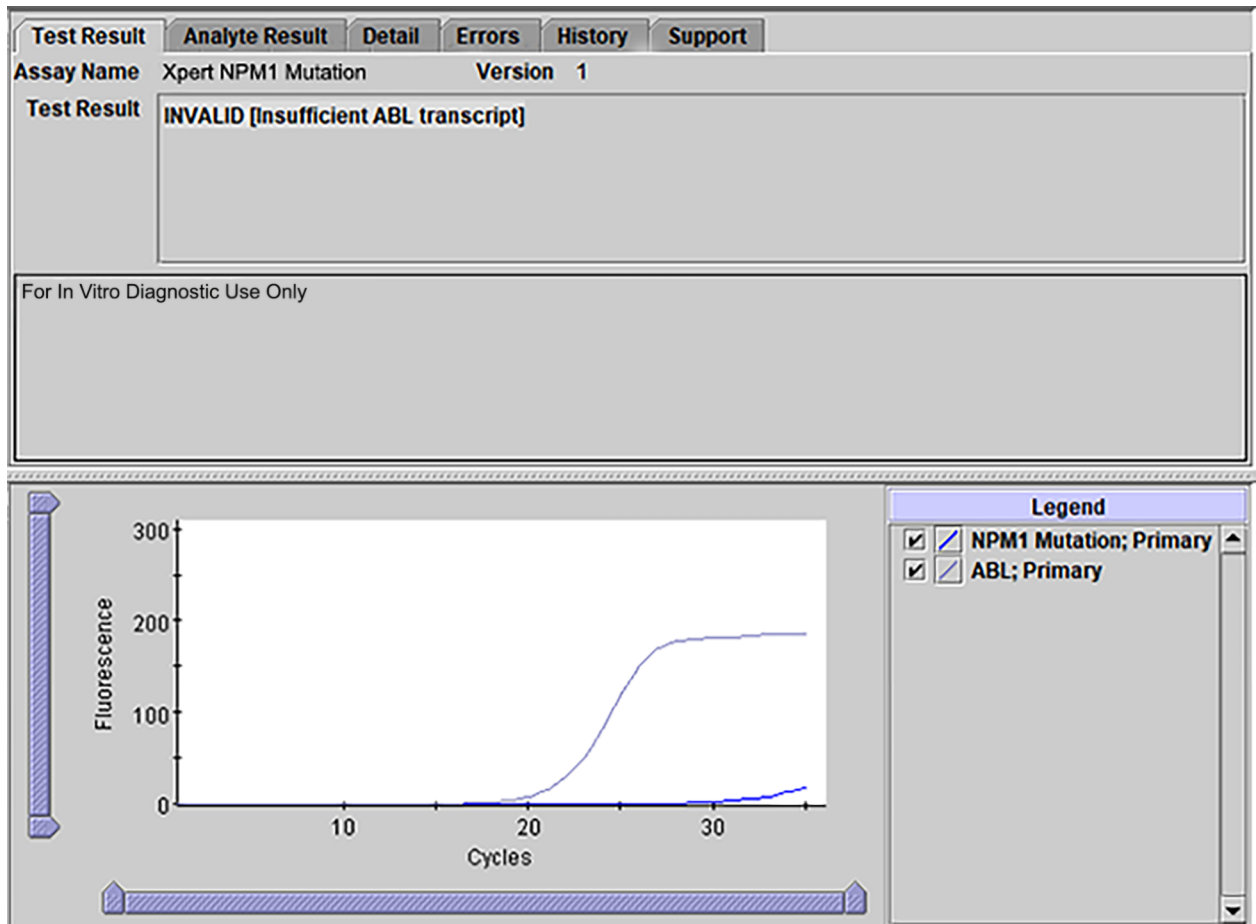
16.6 ONGELDIG [onvoldoende ABL-transcript] (INVALID [Insufficient ABL transcript])

NPM1-mutatie is gedetecteerd of niet gedetecteerd met ABL Ct groter dan “20”.

De GeneXpert-software vereist dat de ABL Ct voor de Xpert NPM1 Mutation-test groter dan of gelijk aan “6” en kleiner dan of gelijk aan “20” is om ervan verzekerd te zijn dat er “Voldoende ABL-transcript (Sufficient ABL transcript)” is. Zie Paragraaf 18, Probleemoplossingsgids.

Voorbeeld: NPM1-mutatie Ct van de assay = 33,3; ABL Ct = 20,2 is groter dan “20”.

Resultaat: **ONGELDIG [onvoldoende ABL-transcript] (INVALID [Insufficient ABL transcript])**. Zie Afbeelding 7.



Afbeelding 7. GeneXpert venster Resultaten weergeven (View Results):
ONGELDIG [onvoldoende ABL-transcript] (INVALID [Insufficient ABL transcript])

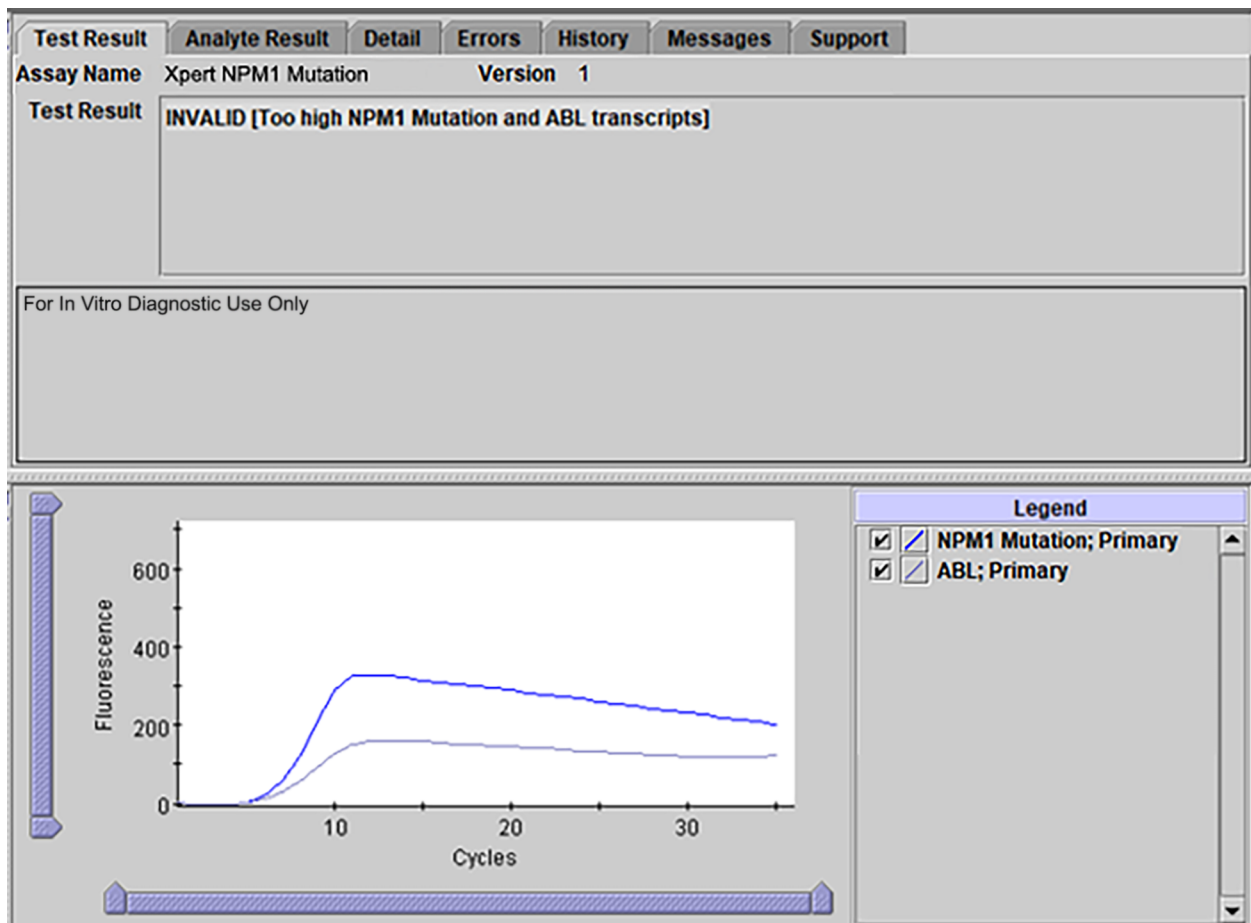
16.7 ONGELDIG [NPM1-mutatie en ABL-transcript te hoog] (INVALID [Too high NPM1 Mutation and ABL transcript])

NPM1-mutatie is gedetecteerd met zowel NPM1-mutatie en ABL Ct's groter dan "0" en kleiner dan "6".

De GeneXpert-software vereist dat de ABL Ct voor de Xpert NPM1 Mutation-test groter dan of gelijk aan "6" en kleiner dan of gelijk aan "20" is om ervan verzekerd te zijn dat er "Voldoende ABL-transcript (Sufficient ABL transcript)" is. Zie Paragraaf 18, Probleemoplossingsgids.

Voorbeeld: NPM1-mutatie Ct van de assay = 5,4 is groter dan "0" en kleiner dan "6"; ABL Ct = 5,9 is kleiner dan "6".

Resultaat: **ONGELDIG [NPM1-mutatie en ABL-transcript te hoog] (INVALID [Too high NPM1 Mutation and ABL transcript])**. Zie Afbeelding 8.



Afbeelding 8. GeneXpert DxVenster Resultaten bekijken van : ONGELDIG [NPM1-mutatie en ABL-transcript te hoog] (INVALID [Too high NPM1 Mutation and ABL transcript])

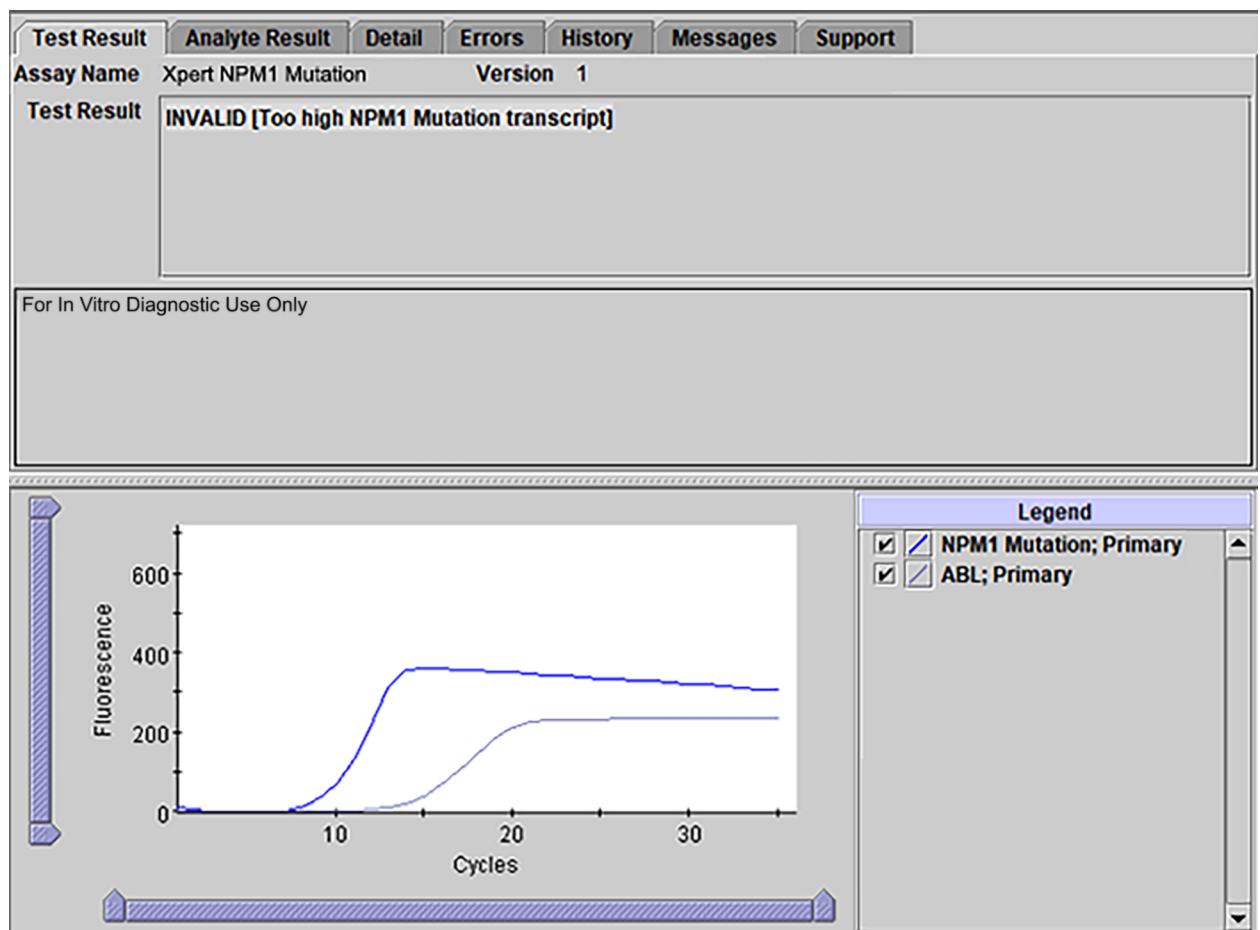
16.8 ONGELDIG [NPM1-mutatie-transcript te hoog] (INVALID [Too high NPM1 Mutation transcript])

NPM1-mutatie is gedetecteerd met NPM1-mutatie Ct groter dan “0” en kleiner dan “6”, en ABL Ct groter dan “6” en kleiner dan of gelijk aan “20”.

De GeneXpert-software vereist dat de ABL Ct voor de Xpert NPM1 Mutation-test groter dan of gelijk aan “6” en kleiner dan of gelijk aan “20” is om ervan verzekerd te zijn dat er “Voldoende ABL-transcript (Sufficient ABL transcript)” is. Zie Paragraaf 18, Probleemoplossingsgids.

Voorbeeld: NPM1-mutatie Ct van de assay = 5,8 is groter dan “0” en kleiner dan “6”; ABL Ct = 13 ligt tussen “6” en “20”.

Resultaat: **ONGELDIG [NPM1-mutatie-transcript te hoog] (INVALID [Too high NPM1 Mutation transcript])**. Zie Afbeelding 9.



Afbeelding 9. GeneXpert venster Resultaten weergeven (View Results): **ONGELDIG [NPM1-mutatie-transcript te hoog] (INVALID [Too high NPM1 Mutation transcript])**

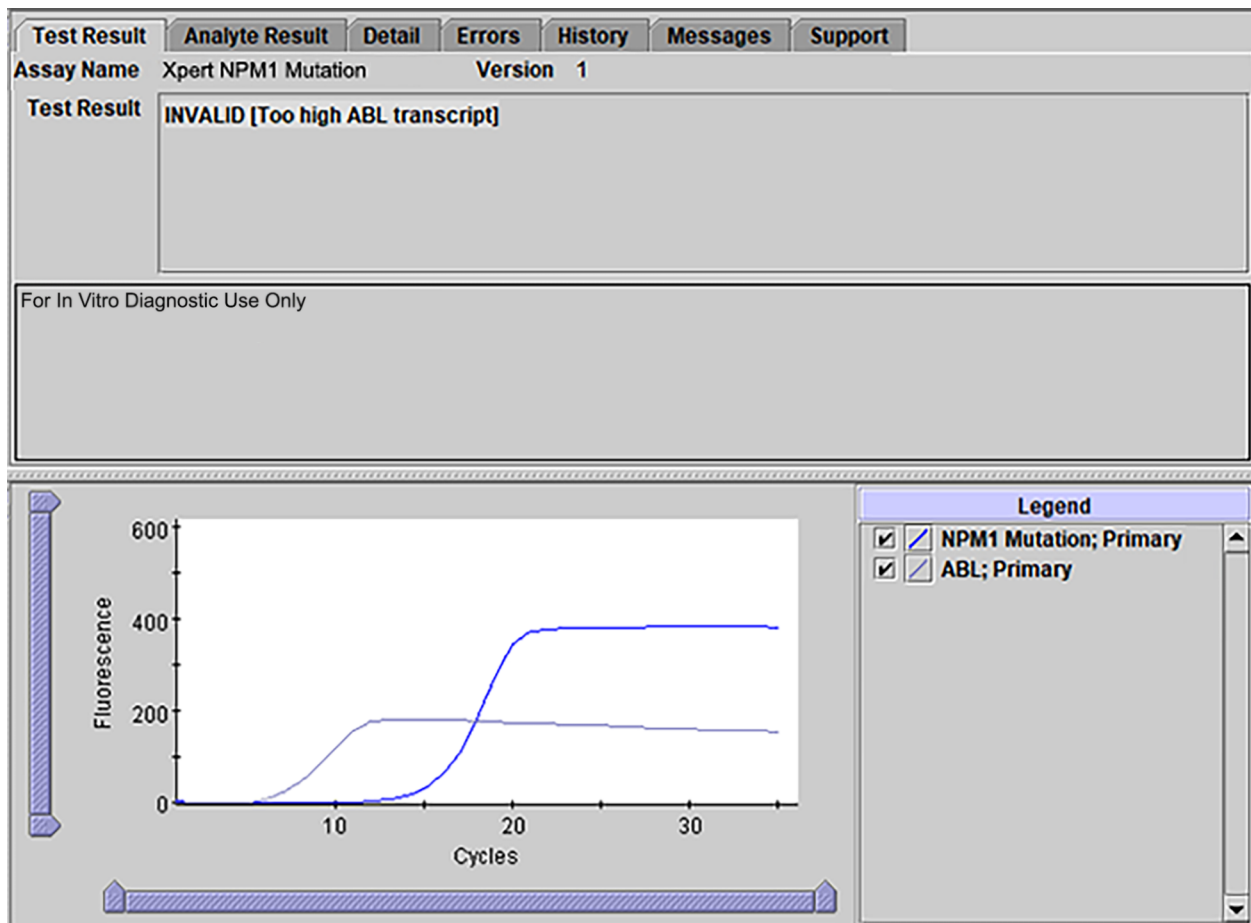
16.9 ONGELDIG [ABL-mutatie-transcript te hoog] (INVALID [Too high ABL Mutation transcript])

NPM1-mutatie is gedetecteerd met NPM1-mutatie Ct groter dan “6” en kleiner dan of gelijk aan “32”, en ABL Ct niet gelijk aan “0” en kleiner dan “6”.

De GeneXpert-software vereist dat de ABL Ct voor de Xpert NPM1 Mutation-test groter dan of gelijk aan “6” en kleiner dan of gelijk aan “20” is om ervan verzekerd te zijn dat er “Voldoende ABL-transcript (Sufficient ABL transcript)” is. Zie Paragraaf 18, Probleemoplossingsgids.

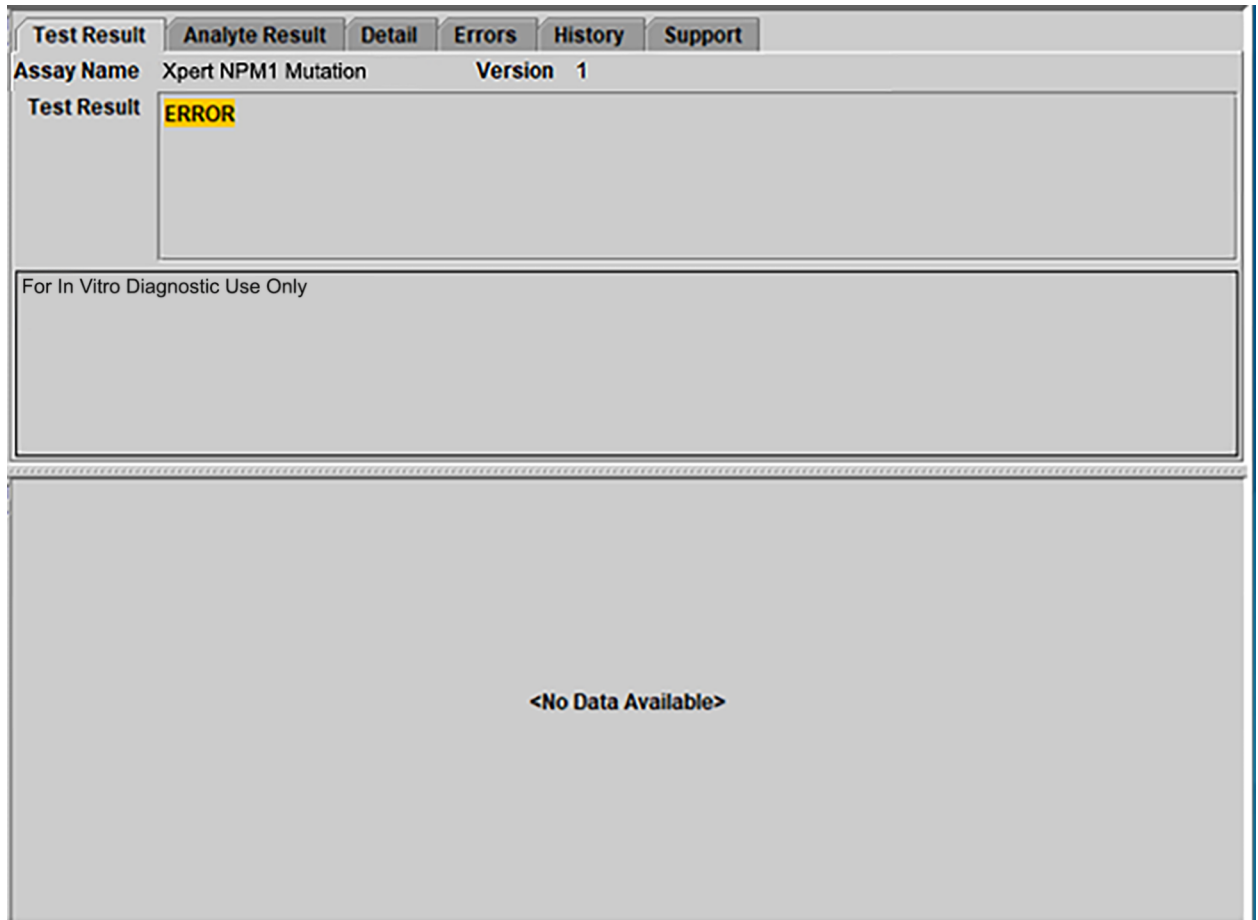
Voorbeeld: NPM1-mutatie Ct van de assay = 13,2; ABL Ct = 5,8 is kleiner dan “6”.

Resultaat: **ONGELDIG [ABL-transcript te hoog] (INVALID [Too high ABL transcript])**. Zie Afbeelding 10.



Afbeelding 10. GeneXpert venster Resultaten weergeven (View Results): **ONGELDIG [ABL-transcript te hoog] (INVALID [Too high ABL transcript])**

16.10 FOUT (ERROR)



Afbeelding 11. GeneXpert venster Resultaten weergeven (View Results): FOUT (ERROR)

17 Beperkingen van de assay

- De assay is niet bestemd voor gebruik met externe kalibratoren.
- Modificaties van deze procedures kunnen de functie van de assay wijzigen.
- Dit product is uitsluitend bedoeld voor gebruik met bloed dat is afgenomen in EDTA-buisjes.
- Gebruik geen heparine als antistollingsmiddel, want dat kan de PCR-reactie remmen.
- De monstertypen natriumcitraat, buffy-coat en beenmerg zijn niet gevalideerd.
- Foutieve assayresultaten kunnen ontstaan door het onjuist afnemen, hanteren of bewaren van monsters of het verwisselen van monsters. Het is noodzakelijk dat de gebruiksaanwijzing nauwgezet wordt nageleefd om foutieve resultaten te voorkomen.
- Mutaties of polymorfismen in de primer- of probe-bindingsgebieden kunnen gevolgen hebben voor de detectie van nieuwe of onbekende varianten en kunnen tot fout-negatieve resultaten leiden.
- Zeer hoge witte-bloedceltellingen kunnen leiden tot drukopbouw in de cartridge en kunnen daardoor leiden tot afgebroken runs of onnauwkeurige resultaten.
- Sommige monsters met zeer lage niveaus van ABL-transcript of met witte bloedcellen lager dan 150.000 cellen/ml worden mogelijk als **ONGELDIG (INVALID)** (Type 1) gerapporteerd. Het resultaat 'onbepaald' sluit de aanwezigheid van zeer kleine hoeveelheden leukemiecellen in het monster niet uit.

18 Probleemoplossingsgids

Tabel 3. Probleemoplossingsgids

Assay-resultaat	Mogelijke oorzaken	Suggesties
ONGELDIG (INVALID)	Type 1: Mislukte endogene ABL-controle: <ul style="list-style-type: none"> • Slechte monsterkwaliteit • Remming van RT-PCR • ABL Ct > 20 en/of eindpunt < 100 	<ul style="list-style-type: none"> • Controleer de kwaliteit van het monster (bijv. overschrijding van de opslaglimiet van het monster, waaronder tijd en temperatuur). • Herhaal de assay met het oorspronkelijke monster (indien beschikbaar) of met behulp van bewaard lysaat en een nieuwe cartridge volgens de procedure beschreven in Paragraaf 19.1, Hertestprocedure voor FOUT (ERROR) of ONGELDIG (INVALID) (Type 1).
	Type 2: Niveau van NPM1-mutatie kan niet worden bepaald doordat het monster overmatig veel NPM1-mutatie en/of overmatig veel of onvoldoende ABL-transcripts (Ct < 6) bevat.	Herhaal de assay met het oorspronkelijke monster (indien beschikbaar) of met behulp van bewaard lysaat en een nieuwe cartridge volgens de procedure beschreven in Paragraaf 19.2, Hertestprocedure voor FOUT (ERROR) (Code 2008) of ONGELDIG (INVALID) (Type 2).
FOUT (ERROR) (Code 2008)	Druk boven limiet (foutbericht 2008)	<ul style="list-style-type: none"> • Controleer de monsterkwaliteit • Controleer op een sterk verhoogde WBC-telling • Herhaal de assay met het oorspronkelijke monster (indien beschikbaar) of met behulp van bewaard lysaat en een nieuwe cartridge volgens de procedure beschreven in Paragraaf 19.2, Hertestprocedure voor FOUT (ERROR) (Code 2008) of ONGELDIG (INVALID) (Type 2).
FOUT (ERROR) (Code 5006, 5007, 5008 en 5009*) *Dit is geen complete lijst met FOUT (ERROR)-codes.	Mislukte probecheck	Herhaal de assay met het oorspronkelijke monster (indien beschikbaar) of met behulp van bewaard lysaat en met een nieuwe cartridge volgens de procedure beschreven in Paragraaf 19.1, Hertestprocedure voor FOUT (ERROR) of ONGELDIG (INVALID) (Type 1).
GEEN RESULTAAT (NO RESULT)	Mislukte gegevensverzameling. De operator is bijvoorbeeld gestopt met een assay die aan de gang was, of er was een stroomuitval.	Herhaal de assay met het oorspronkelijke monster (indien beschikbaar) of met behulp van bewaard lysaat en met een nieuwe cartridge volgens de procedure beschreven in Paragraaf 19.1, Hertestprocedure voor FOUT (ERROR) of ONGELDIG (INVALID) (Type 1).

19 Hertesten

19.1 Hertestprocedure voor FOUT (ERROR) of ONGELDIG (INVALID) (Type 1)

Herhaal de test voor monsters die het resultaat **FOUT (ERROR)** of **ONGELDIG (INVALID)** krijgen doordat de cyclusthreshold (Ct) voor ABL de maximaal geldige Ct ($Ct > 20$) overschrijdt of doordat het eindpunt onder de drempelinstelling (< 100) ligt. Zie ook Paragraaf 18, Probleemoplossingsgids.

1. Als er voldoende bloedmonstervolume beschikbaar is, herhaalt u de test met gebruik van het oorspronkelijke bloedafnamebuisje. Hierbij volgt u de procedure in Paragraaf 12.2.

-OF-

Als er onvoldoende bloedmonstervolume is, kan de hertest worden uitgevoerd met het bewaarde lysaat uit Paragraaf 12.2.1, stap 12.

- a. Als het bewaarde lysaat uit Paragraaf 12.2.1, stap 12 ingevroren wordt bewaard, laat u het vóór het gebruik ontdooien en op kamertemperatuur komen.
 - b. Zorg dat het lysaat goed gemengd is door het monster 10 seconden lang continu te mengen met een vortexmixer bij de maximale instelling, waarna u het 3 minuten opzij zet om de belletjes te laten bezinken.
2. Breng 1 ml van het geprepareerde lysaat over naar een nieuw conisch buisje van 50 ml.
 3. Volg stap 13-17 in Paragraaf 12.2.1 om het definitieve lysaat te maken.
 4. Open de cartridge door het deksel op te lichten en breng de volledige inhoud van één (1) ampul met wasreagens over in de wasreagenskamer (met kleine opening). Zie Afbeelding 1.
 5. Breng de volledige inhoud van het geprepareerde monster met een pipet aan in de monsterkamer (grote opening). Zie Afbeelding 1.
 6. Sluit het deksel van de cartridge. Start de assay (zie Paragraaf 12.4, De assay starten).

19.2 Hertestprocedure voor FOUT (ERROR) (Code 2008) of ONGELDIG (INVALID) (Type 2)

Herhaal de test voor monsters met NPM1-mutatie- en/of ABL-transcriptniveau onder de minimaal geldige Ct ($Ct > 0$ en $Ct < 6$) en/of wanneer de druklimiet is overschreden. Zie ook Paragraaf 18, Probleemoplossingsgids.

1. Breng 100 µl PK (proteïnase K) aan onder in een nieuw conisch buisje van 50 ml.
2. Zorg ervoor dat het bloedmonster of het overgebleven lysaat van Paragraaf 12.2, stap 12 goed gemengd is door het buisje 8 keer om te keren onmiddellijk vóór het pipetteren.
3. Voeg 250 µl bloedmonster en 3,75 PBS (pH 7,4, aangeschaft door de gebruiker), indien beschikbaar, of 60 µl bewaard lysaat van Paragraaf 12.2.1, stap 12 toe aan het buisje dat al proteïnase K bevat.
 - a. Als het bewaarde lysaat uit Paragraaf 12.2.1, stap 12 ingevroren wordt bewaard, laat u het vóór het gebruik ontdooien en op kamertemperatuur komen.
 - b. Zorg dat het lysaat goed gemengd is door het monster 10 seconden lang continu te mengen met een vortexmixer bij de maximale instelling, waarna u het 3 minuten opzij zet om de belletjes te laten bezinken.
4. Meng het monster 3 seconden lang continu met een vortexmixer op de maximale instelling.
5. Incubeer 1 minuut lang bij kamertemperatuur.
6. Volg de stappen 6-17 in Paragraaf 12.2.1, om het definitieve lysaat te maken voor de hertest van het bloedmonster met PBS. Volg de onderstaande stappen a-g, om het definitieve lysaat te maken voor de hertest van het monster met bewaard lysaat.
 - a. Voeg 2,5 ml LY aan het buisje met bewaard lysaat voor de hertest van het monster toe.
 - b. Meng het monster 10 seconden lang continu met een vortexmixer op de maximale instelling.
 - c. Incubeer 5 minuten lang bij kamertemperatuur.
 - d. Meng het monster 10 seconden lang continu met een vortexmixer op de maximale instelling.
 - e. Incubeer 5 minuten lang bij kamertemperatuur.
 - f. Voeg aan hetzelfde buisje 2 ml absolute ethanol van reagenskwaliteit (aangeschaft door de gebruiker) toe.
 - g. Meng het monster 10 seconden lang continu met een vortexmixer op de maximale instelling. Zet het buisje opzij.
7. Open de cartridge door het deksel op te lichten en breng de volledige inhoud van één (1) ampul met wasreagens over in de wasreagenskamer (met kleine opening). Zie Afbeelding 1.

8. Breng de volledige inhoud van het geprepareerde monster met een pipet aan in de monsterkamer (grote opening). Zie Afbeelding 1.
9. Sluit het deksel van de cartridge. Start de assay (zie Paragraaf 12.4, De assay starten).

20 Verwachte waarden

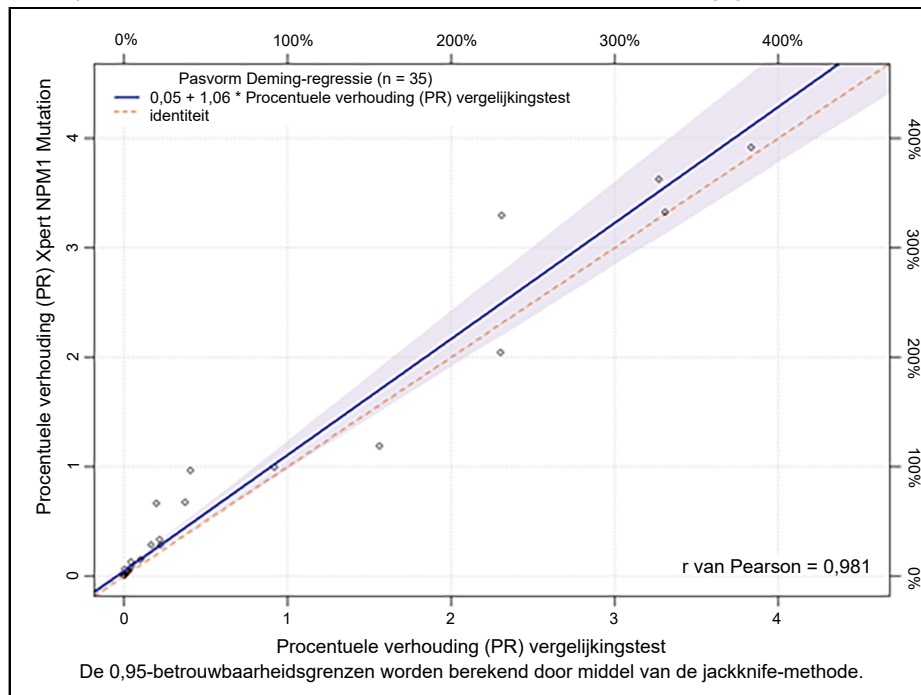
Het Xpert NPM1 Mutation-bereik beslaat essentiële klinische besluitvormingspunten voor de monitoring van AML. Verwachte waarden worden uitgedrukt als procentuele verhouding tussen NPM1-mutatie-mRNA en het ABL-mRNA en lopen uiteen van 0,030% tot 500%. Metingen onder dit bereik worden gerapporteerd als 'niet gedetecteerd' of onder de detectielimiet (limit of detection; LoD). Metingen boven dit bereik worden gerapporteerd als boven de kwantificatielimiet (limit of quantitation; LoQ). Zie Paragraaf 15 voor details.

21 Klinische prestaties

Er werd een multicentrisch, observationeel methodevergelijkingsonderzoek uitgevoerd op drie locaties in de Verenigde Staten en één locatie buiten de Verenigde Staten. Er werden monsters van 40 afzonderlijke AML-patiënten met NPM1-mutatie van één tijdstip en over het hele dynamische bereik van de Xpert NPM1 Mutation-test in het onderzoek opgenomen. Leeftijd en geslacht werden verzameld voor de patiënten van wie de monsters werden genomen. Het geslacht was als volgt verdeeld: 11 mannen (27,5%) en 29 vrouwen (72,5%). Alle monsters waren afkomstig van patiënten in de leeftijd van 16 tot 81 jaar, met een gemiddelde leeftijd van 59,7 jaar.

Alle 40 monsters leverden geldige testresultaten op. Zesendertig van de 40 monsters leverden resultaten op binnen de kwantitatieve bereiken van beide tests. Vier monsters werden van de Deming-regressie uitgesloten omdat zij negatief waren in de Xpert NPM1 Mutation en/of de vergelijkingstest. Een aanvullend monster werd uitgesloten omdat het een uitbijter betrof. In totaal werden 35 monsters opgenomen in de Deming-regressieanalyse.

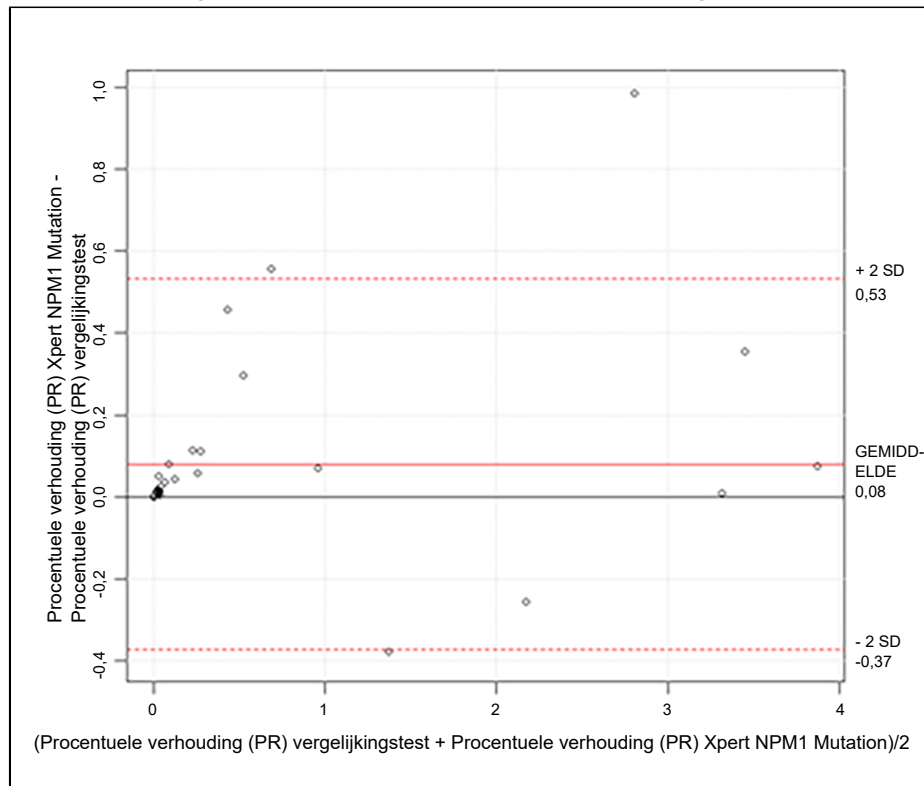
De prestaties van de Xpert NPM1 Mutation-test ten opzichte van de vergelijkingstest werden geëvalueerd met behulp van een Deming-regressie om de helling en de intercept te bepalen. Afbeelding 12 toont de resultaten van de Deming-regressieanalyse, inclusief de helling, intercept en de identiteitslijn voor de 35 monsters. De 95%-betrouwbaarheidsgrenzen zijn berekend met de jackknife-methode en de correlatiecoëfficiënt van Pearson is weergegeven.



Afbeelding 12. Deming-regressie voor procentuele verhouding

De helling en intercept voor de procentuele verhouding uit de Deming-regressieanalyse waren respectievelijk 1,06 en 0,05, en de correlatie van Pearson was 0,981 tussen de metingen van de Xpert NPM1 Mutation-test en vergelijkingstest.

Er is een Bland-Altman-analyse voor het verschil in procentuele verhouding geëvalueerd voor de 35 monsters met kwantitatieve resultaten die binnen het lineaire bereik van de Xpert NPM1 Mutation en de vergelijkingstest lagen. Afbeelding 13 toont de Bland-Altman-grafiek met het verschil in procentuele verhouding tussen de twee tests ten opzichte van de gemiddelde procentuele verhouding voor elk monster. De grafiek toont ook de bovenste en onderste twee standaarddeviaties (2SD) van het gemiddelde verschil dat in het onderzoek werd waargenomen.



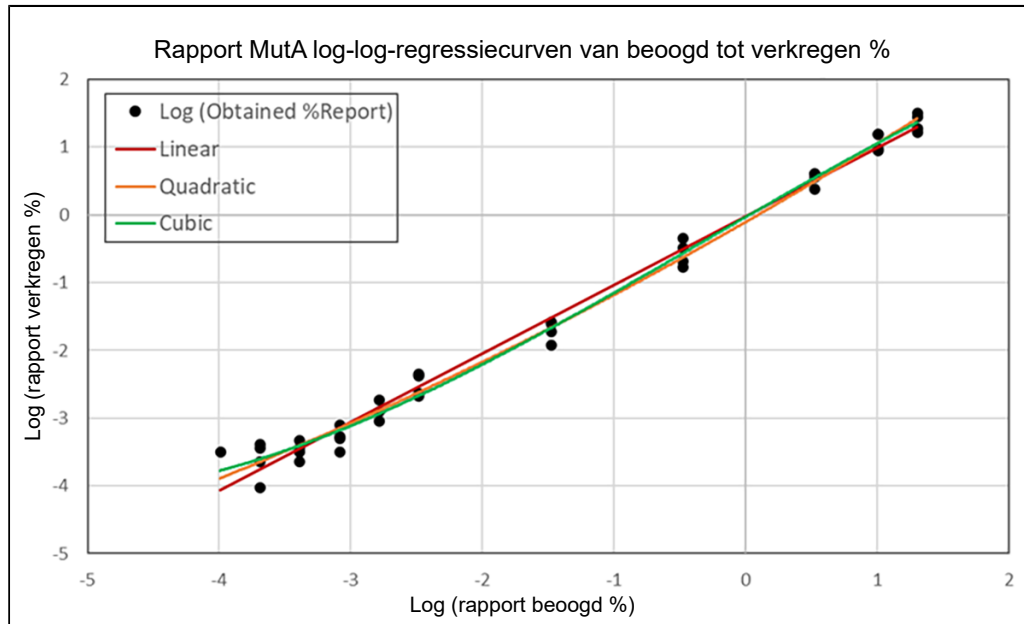
Afbeelding 13. Bland-Altman-grafiek voor de Xpert NPM1 Mutation en procentuele verhouding (PR) vergelijkingstest

Het gemiddelde verschil in procentuele verhouding tussen het resultaat van de Xpert NPM1 Mutation en dat van de vergelijkingstest was 0,08. Het merendeel (91,4%, 32/35) van de resultaten viel binnen de 2SD van het gemiddelde verschil.

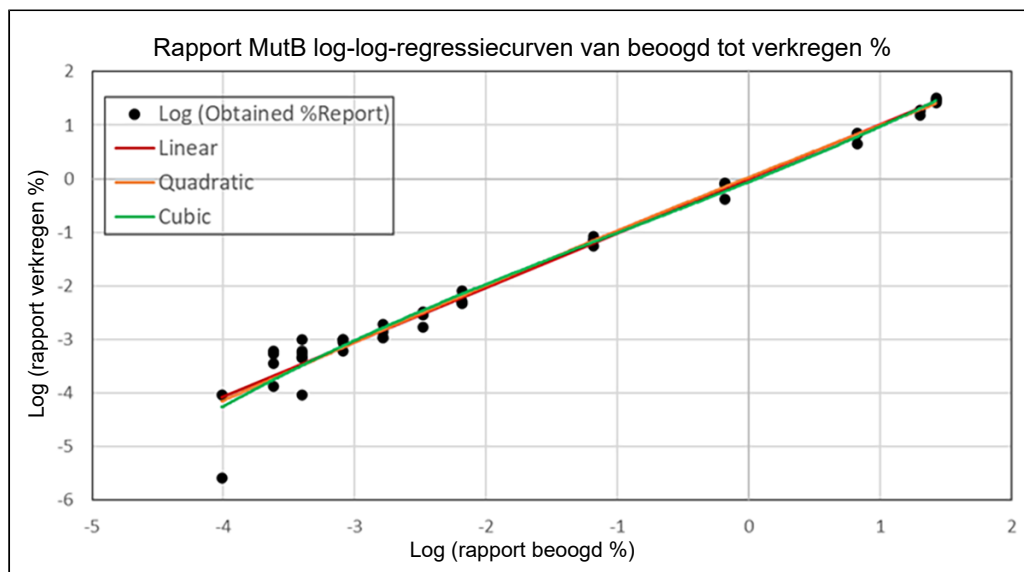
22 Analytische gegevens

22.1 Lineariteit/dynamisch bereik

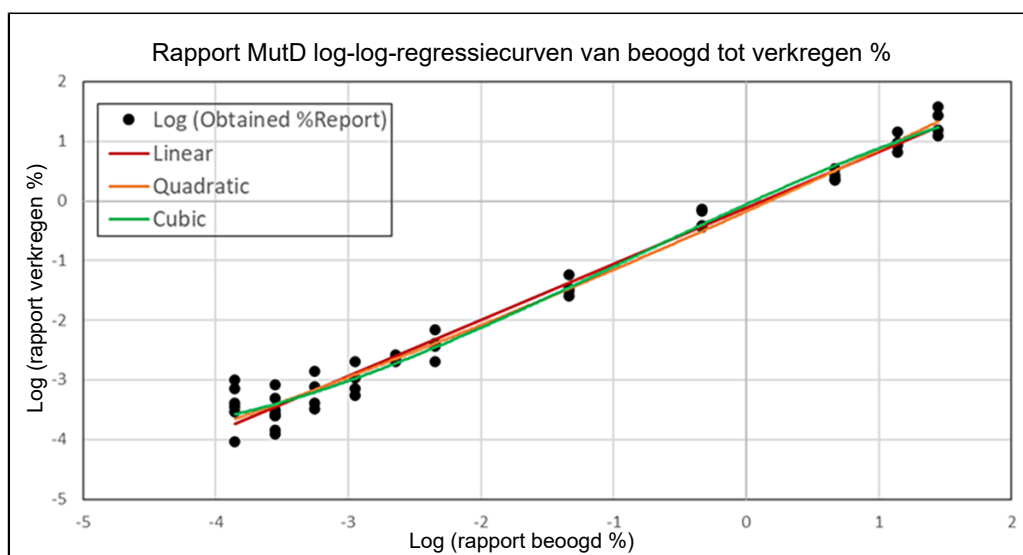
De lineariteit werd bepaald voor elk van de drie subtypen van de NPM1-mutant, mutA, mutB en mutD, waarbij gebruik werd gemaakt van cellysaten die hoge concentraties van elk subtype transcript bevatten. Dergelijke lysaten werden verdund in een achtergrondlysaat dat bereid was uit vermoedelijk NPM1-mutatie-negatieve donoren tot doelbereiken van ~0,01–2500% NPM1-mutatie/ABL. Alle concentraties werden in viervoud getest op één reagenspartij. De tests en statistische analyses werden uitgevoerd conform CLSI EP06-A⁹. Regressiecurven voor elk subtype worden weergegeven in Afbeelding 14, Afbeelding 15 en Afbeelding 16. Het lineaire bereik van elk subtype en hun lineaire modelcoëfficiënten zijn samengevat in Tabel 4.



Afbeelding 14. Regressiecurven voor mutA



Afbeelding 15. Regressiecurven voor mutB



Afbeelding 16. Regressiecurven voor mutD

Tabel 4. Samenvatting van lineaire bereiken en lineaire modelcoëfficiënten

Subtype	Lineair bereik	Intercept	Helling	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

Tezamen vertoonde de Xpert NPM1 Mutation-test een lineariteit van 0,014–2020% NPM1-mutatie/ABL. Begrensd door de LoQ en de bovenlimiet van de software, bedraagt het te rapporteren dynamische bereik 0,030-500%.

22.2 Analytische gevoeligheid (detectielimiet, kwantificatielimiet, blancolimiet)

De detectielimiet (LoD) is het laagste NPM1-mutatie/ABL-niveau waarbij 95% van de monsters consequent wordt gerapporteerd als “**NPM1-mutatie GEDETECTEERD [##,##%] (NPM1 Mutation DETECTED [##.##%])**.” De LoD werd voor de subtypen mutA, mutB en mutD afzonderlijk bepaald door seriële verdunningen te testen van lysaten van NPM1-mutatie-positieve cellen en klinische lysaten die elk mutatiesubtype bevatten. De bijbehorende LoD's werden geschat en geverifieerd in overeenstemming met CLSI EP17-A2¹⁰. De resulterende analyses leverden een LoD op van 0,025% voor mutA, 0,023% voor mutB, en 0,030% voor mutD (Tabel 5). De hoogste LoD van de drie subtypen (0,030%) wordt beschouwd als de totale LoD van de Xpert NPM1 Mutation-test.

De kwantificatielimiet (LoQ) is het laagste NPM1-mutatie/ABL-niveau waarboven monsters kunnen worden gekwantificeerd met een standaardafwijking $\leq 0,36$ logreductie (LR) voor gemiddelde LR's van meer dan 3,5. De LoQ's werden in overeenstemming met CLSI EP17-A2¹⁰ geschat en geverifieerd op 0,025% voor het mutA-subtype, 0,023% voor het mutB-subtype en 0,030% voor het mutD-subtype (Tabel 5). De hoogste LoQ van de drie subtypen van 0,030% wordt beschouwd als de totale LoQ van de Xpert NPM1 Mutation-test.

De blancolimiet (LoB) is het hoogste verwachte NPM1-mutatie/ABL-resultaat onder 95% van de blancomonsters van vermoedelijk NPM1-mutatie-negatieve donoren. In overeenstemming met CLSI EP17-A2¹⁰ is de LoB van de Xpert NPM1 Mutation-test geschat en geverifieerd op 0,0085% (Tabel 5).

Tabel 5. De detectielimiet, kwantificatielimiet en blancolimiet van de Xpert NPM1 Mutation-test [% NPM1-mutatie/ABL]

Subtype	LoD [% NPM1-mutatie/ABL]	LoQ [% NPM1-mutatie/ABL]	LoB [% NPM1-mutatie/ABL]
mutA	0,025%	0,025%	0,0085%
mutB	0,023%	0,023%	
mutD	0,030%	0,030%	

22.3 Analytische specificiteit

De analytische specificiteit van de Xpert NPM1 Mutation-test werd bepaald door het testen van met EDTA behandelde perifere bloedmonsters van vijftientig gezonde donoren.

Geen van de vermoedelijk NPM1-mutatie-negatieve monsters die in dit onderzoek zijn geëvalueerd, heeft het resultaat van **NPM1-mutatie GEDETECTEERD (NPM1 Mutation DETECTED)** opgeleverd. De Xpert NPM1 Mutation-test is dus specifiek voor de mutante NPM1-mRNA-transcripts (type A, B en D in exon 12) die geassocieerd worden met AML en heeft een analytische specificiteit van 100% voor EDTA-monsters van perifeer bloed.

22.4 Evaluatie van overdrachtsbesmetting

Er is een onderzoek uitgevoerd om aan te tonen dat op zich zelf staande GeneXpert-cartridges voor eenmalig gebruik carry-overcontaminatie vanuit cartridges die achtereenvolgens in dezelfde instrumentmodule worden getest voorkomen. Een vermoedelijk NPM1-mutatie-negatief monster werd getest na een hoog NPM1-mutatie-positief monster in dezelfde GeneXpertmodule. Het testschema werd 10 maal herhaald op twee GeneXpert-modules (22 negatieve en 20 positieve in totaal). Alle tests van het positieve monster leverden het verwachte resultaat “**NPM1-mutatie GEDETECTEERD [#,##%] (NPM1 Mutation DETECTED [#,##%])**”, en alle tests van de negatieve monsters leverden het verwachte resultaat “**NPM1-mutatie NIET GEDETECTEERD [voldoende ABL-transcript] (NPM1 Mutation NOT DETECTED [Sufficient ABL transcript])**” op.

22.5 Potentieel storende stoffen

Bij dit onderzoek werden vijf stoffen beoordeeld die aanwezig kunnen zijn in EDTA-monsters van perifeer bloed en die mogelijk de prestaties van de test kunnen verstoren. De geteste verbindingen en niveaus (zie Tabel 6) waren gebaseerd op advies uit CLSI EP07-ED3¹¹. Potentieel storende stoffen werden getest in EDTA-monsters van perifeer bloed, samengevoegd met lysaten van gekweekte NPM1-mutatie-positieve cellen, representatief voor drie niveaus: > 1%, 0,1–0,5% en negatief. De testcontroles bestonden uit dezelfde monsters zonder de potentieel storende stoffen. Elk niveau werd getest bij afwezigheid en aanwezigheid van de vijf afzonderlijke potentieel storende stoffen, met 4 replicaten per toestand. Een stof werd aangemerkt als niet storend als bij aanwezigheid daarvan de waargenomen gemiddelde procentuele verhouding binnen een 3-voudig verschil viel bij vergelijking met de controle.

Bij geen van de in dit onderzoek beoordeelde storende stoffen werd een klinisch significante remmende uitwerking op de Xpert NPM1 Mutation-test uitgenomen. Er werden geen van de geteste toestanden statistisch significante verschillen (p-waarde < 0,05) waargenomen en de gerapporteerde procentuele verhoudingen tussen de test- en controletoeestand vielen binnen het acceptabele 3-voudige bereik.

Tabel 6. Potentieel storende stoffen getest met Xpert NPM1 Mutation

Storende stoffen	Geteste concentratie
Ongeconjugeerde bilirubine	20 mg/dl
Cholesterol, totaal	500 mg/dl
Triglyceriden, totaal (lipiden)	3000 mg/dl
Heparine	3500 E/l
EDTA (te kleine afname)	930 mg/dl

23 Reproduceerbaarheid en precisie

Het onderzoek is opgezet volgens de algemene principes zoals beschreven in de norm CLSI EP05-A3 voor multifactoriële onderzoeken. Het werd uitgevoerd op drie locaties. De opzet van het onderzoek omvatte monsterpanelleden met de mutaties A, B en D in twee concentraties. Zeven panelleden werden in duplo getest, twee runs per dag, gedurende in totaal 6 dagen door elk van de twee operators op drie verschillende locaties (3 locaties × 2 operators × 3 partijen × 2 dagen × 2 runs × 2 replicaten = 144 testresultaten/panellid). De reproduceerbaarheids- en precisiepanels werden voorbereid door Cepheid en bestaan uit zeven panelleden, zoals weergegeven in Tabel 7. De panels werden samengevoegd in een gesimuleerde EDTA-matrix van perifeer bloed.

Tabel 7. Reproduceerbaarheid en precisie van de panels

Panellid	Target	Niveau procentuele verhouding (PR)
1	Negatief	n.v.t.
2	NPM1-mutatie A	Matig positief (~5%)
3	NPM1-mutatie A	Laag positief (~0,2%)
4	NPM1-mutatie B	Matig positief (~5%)
5	NPM1-mutatie B	Laag positief (~0,2%)
6	NPM1-mutatie D	Matig positief (~5%)
7	NPM1-mutatie D	Laag positief (~0,2%)

Het aantal monsters met geldige resultaten voor elk panellid dat door elk van de twee operators op drie locaties is geanalyseerd, wordt weergegeven in Tabel 8.

Tabel 8. Reproduceerbaarheid en precisie: Aantal monsters met geldige resultaten

Panellid		Locatie 1			Locatie 2			Locatie 3			Totaal aantal monsters
		Operator 1	Operator 2	Locatie	Operator 1	Operator 2	Locatie	Operator 1	Operator 2	Locatie	
1	Negatief	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 (verhouding ~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 (verhouding ~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 (verhouding ~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 (verhouding ~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 (verhouding ~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 (verhouding ~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 Twee negatieve monsters vertoonden geldige maar gedetecteerde resultaten (FP)

^b Eén negatief monster vertoonde een geldig maar gedetecteerd resultaat (FP)

^c Eén LR 2.7: mut D-monster (verhouding ~0,2%) vertoonde een geldig maar niet gedetecteerd resultaat (FN)

De kwantitatieve resultaten werden geanalyseerd door middel van een geneste variantieanalyse (ANOVA) met willekeurige effecten en de variatiecoëfficiënt (CV). De resultaten van de ANOVA-berekeningen voor standaarddeviatie en -variantie voor elk positief monster worden weergegeven in Tabel 9. De variantie en het percentage van de totale variantie dat door elke component (locatie/instrument, operator, partij, dag, run) wordt bijgedragen, wordt aangegeven als SD en procentuele bijdrage van elke component.

Tabel 9. Resultaten van de variatiecoëfficiënt (CV): Procentuele verhouding (PR)

Panellid	NGemiddelde		Locatie		Operator		Partij		Dag		Run		Binnen assay		Totaal	
			SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)
LR1.3: mut A (verhouding ~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 (verhouding ~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 (verhouding ~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 (verhouding ~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 (verhouding ~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 (verhouding ~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 Eén monster werd niet gedetecteerd door Xpert NPM1 en werd uitgesloten van de analyse omdat er geen kwantitatieve meting was.

De totale variatiecoëfficiënt (CV) van de procentuele verhouding tussen de kwantitatieve waarden voor de matig positieve monsters LR1.3: mut A, mut B en mut D (verhouding ~5%) varieerde van 21,74 tot 26,23 en voor de laag-positieve monsters LR2.7: mut A, mut B en mut D (verhouding ~0,2%) van 20,68 tot 79,22.

24 Literatuurverwijzingen

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>. Geraadpleegd op 16 september 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 (raadpleeg de laatste uitgave). <http://www.cdc.gov/biosafety/publications/>
7. Clinical and Laboratory Standards Institute. Protection of Laboratory Workers from Occupationally Acquired Infections; Approved Guideline. Document M29 (raadpleeg de laatste uitgave).
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 Locaties Cepheid-hoofdkantoren

Bedrijfshoofdkantoor

Cepheid
904 Caribbean Drive
Sunnyvale, CA 94089
USA

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

Europees hoofdkantoor

Cepheid Europe SAS
Vira Solelh
81470 Maurens-Scopont
France

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

26 Technische ondersteuning

Zorg dat u onderstaande informatie bij de hand hebt voordat u contact opneemt met de technische ondersteuning van Cepheid:

- Productnaam
- Partijnummer
- Serienummer van het instrument
- Eventuele foutberichten
- Softwareversie en, indien van toepassing, computerservicetagnummer

Verenigde Staten





















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

Frankrijk

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

Contactgegevens voor alle locaties voor technische ondersteuning van Cepheid zijn beschikbaar op onze website:
www.cepheid.com/en_US/support/contact-us.

27 Tabel van symbolen

Symbol	Betekenis
	Catalogusnummer
	CE-markering – Europese conformiteit
	Hulpmiddel voor <i>in-vitro</i> diagnostiek
	Batchcode
	Niet opnieuw gebruiken
	Raadpleeg de gebruiksaanwijzing
	Fabrikant
	Land van fabricage
	Bevat voldoende voor n tests
	Controle
	Vervaldatum
	Temperatuurbeperring
	Biologische risico's
	Let op
	Ontvlambare vloeistoffen
	Toxisch voor reproductie- en orgaansystemen
	Waarschuwing
	Gemachtigde in de Europese Gemeenschap
	Gemachtigd vertegenwoordiger in Zwitserland
	Importeur



Cepheid
904 Caribbean Drive
Sunnyvale, CA 94089
VS
Telefoon: + 1 408 541 4191
Fax: + 1 408 541 4192



Cepheid Europe SAS
Vira Solelh
81470 Maurens-Scopont
Frankrijk
Telefoon: + 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 Revisiegeschiedenis

Rubriek	Beschrijving van wijziging
23	Fout gecorrigeerd in de rubriek 'Reproduceerbaarheid en precisie'.