

Xpert[®] NPM1 Mutation

REF GXNPM1-CE-10

Notice d'utilisation

IVD CE

Déclarations sur les marques de commerce, les brevets et le droit d'auteur

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[®], le logo Cepheid, GeneXpert[®] et Xpert[®] sont des marques commerciales de Cepheid enregistrées aux États-Unis et dans d'autres pays.

Toutes les autres marques commerciales sont la propriété de leurs détenteurs respectifs.

L'ACHAT DE CE PRODUIT CONCÈDE À L'ACHETEUR LE DROIT NON TRANSFÉRABLE DE L'UTILISER CONFORMÉMENT À CETTE NOTICE D'UTILISATION. AUCUN AUTRE DROIT N'EST CONCÉDÉ QUE CE SOIT EXPRESSÉMENT, DE FAÇON IMPLICITE OU PAR PRÉCLUSION. DE PLUS, AUCUN DROIT DE REVENTE N'EST CONCÉDÉ AVEC L'ACHAT DE CE PRODUIT.

© 2022–2023 Cepheid.

Voir Section 28, Historique des révisions pour une description des modifications.

Xpert[®] NPM1 Mutation

Réservé au diagnostic *in vitro*.

1 Nom de marque déposée

Xpert[®] NPM1 Mutation

2 Nom commun ou usuel

Xpert NPM1 Mutation

3 But prévu

3.1 Utilisation prévue

Le test Xpert NPM1 Mutation, effectué sur les systèmes Cepheid GeneXpert[®] Dx System, est un test de diagnostic *in vitro* destiné à la quantification des transcrits d'ARNm de la NPM1 mutante (types A, B et D dans l'exon 12) dans des échantillons de sang périphérique de patients atteints d'une leucémie myéloïde aiguë (LMA). Le test utilise une réaction de polymérisation en chaîne par transcriptase inverse (RT-PCR) automatisée et communique le pourcentage de transcrits d'ARNm de la NPM1 mutante par rapport au contrôle endogène ABL1. Le test est également indiqué comme une aide au suivi des patients atteints de LMA avec NPM1 mutante pour déterminer les taux de transcrits d'ARNm de NPM1 mutante. Le test doit être utilisé en conjonction avec d'autres facteurs clinico-pathologiques.

Le test Xpert NPM1 Mutation ne fait pas la différence entre les transcrits de NPM1 mutante de type A, B ou D et ne permet pas de détecter ou de surveiller d'autres types rares de NPM1 mutante. Ce test n'est pas destiné au diagnostic de la LMA.

3.2 Utilisateur/environnement prévu

Le test Xpert NPM1 Mutation doit être utilisé par des utilisateurs qualifiés en laboratoire.

4 Synthèse et description

La leucémie myéloïde aiguë (LMA) est un cancer des cellules souches hématopoïétiques myéloïdes de la moelle osseuse^{1,2}. Elle est connue pour présenter diverses mutations de l'exon 12 de Nucleophosmin (NPM1)³. L'insertion de nucléotides dans l'exon 12 entraîne une mutation de type « frameshift » et crée une séquence d'exportation nucléaire (NES). Les mutations du gène NPM1 entraînent une localisation cytoplasmique aberrante de NPM1 et des protéines interagissant avec NPM1. NPM1 est l'un des gènes les plus mutés dans la LMA et les mutations se produisent dans 28 % à 35 % de tous les cas de LMA. Bien que plusieurs médicaments ciblant NPM1 muté soient actuellement à l'étude, il n'existe actuellement aucune thérapie ciblée approuvée par la FDA.⁴

Le gène NPM1 code la protéine de transport nucléaire qui joue un rôle dans la biologie des centrosomes et des ribosomes, ainsi que dans la régulation d'autres systèmes cellulaires, notamment les voies de suppression des tumeurs. NPM1 est une phosphoprotéine nucléolaire qui sert de zone d'échange entre le noyau et le cytoplasme. Elle régule le transport des particules ribosomiques à travers la membrane nucléaire. Les mutations de NPM1 ont été découvertes pour la première fois chez des personnes atteintes de LMA après l'observation d'une localisation cytoplasmique anormale plutôt que la localisation nucléaire normale. L'évaluation génétique des blastes leucémiques combinée à la localisation cytoplasmique de NPM1 a permis de connaître les mutations connues de l'exon 12.³ Les mutations les plus fréquentes de NPM1 sont

celles de type A (~75-80 %), de type B (~10 %) et de type D (~5 %), toutes dans l'exon 12, ce qui entraîne une mutation de type frameshift à partir d'une insertion de quatre nucléotides. La mutation entraîne une perte d'un signal de localisation nucléolaire et une localisation cytoplasmique aberrante de la protéine chez les patients atteints de LMA.⁵

5 Principe de la procédure

Le test Xpert NPM1 Mutation est un test automatisé permettant de quantifier la quantité de transcrits de la NPM1 mutante sous la forme d'un rapport NPM1 mutante /ABL1. Le test est effectué sur le Cepheid GeneXpert Dx System, qui automatise et intègre la purification des échantillons, l'amplification de l'acide nucléique et la détection de la séquence cible dans des échantillons simples ou complexes, par tests de RT-PCR en temps réel et de PCR nichée. Le système se compose d'un instrument, d'un ordinateur et d'un logiciel préinstallé pour l'exécution des tests et l'affichage des résultats. Le système nécessite l'utilisation des cartouches GeneXpert jetables à usage unique qui contiennent les réactifs RT-PCR et de PCR nichée et hébergent les processus RT-PCR et PCR nichée. Pour une description complète du système, voir le approprié *GeneXpert Dx System Operator Manual*.

Le test Xpert NPM1 Mutation comprend des réactifs permettant de détecter la NPM1 mutante et le transcrit ABL1 comme contrôle endogène dans des échantillons de sang périphérique. La quantité de transcrit de la NPM1 mutante est quantifiée sous forme de rapport en pourcentage de la NPM1 mutante/ABL1. Deux contrôles sont inclus dans le test Xpert NPM1 Mutation – le contrôle endogène (ABL1) et le contrôle de vérification des sondes (CVS). Le contrôle endogène ABL1 normalise la cible de NPM1 mutante et garantit qu'une quantité suffisante d'échantillon est utilisée dans le test. Le CVS confirme la réhydratation des réactifs et le remplissage des tubes de PCR et que tous les réactifs, y compris les sondes et les colorants, sont présents et fonctionnels dans la cartouche.

6 Réactifs et instruments

6.1 Matériel fourni

Le kit Xpert NPM1 Mutation (GXNPM1-CE-10) contient suffisamment de réactifs pour traiter 10 échantillons du test ou échantillons de contrôle qualité. Le kit contient les éléments suivants :

Xpert NPM1 Mutation Réactifs	10 de chaque par kit
Protéinase K (PK)	10 x 130 µl par flacon
Composant	Ingrédient du réactif
Protéinase K	< 5 %
Réactif de lyse (LY) (chlorure de guanidinium)	10 x 5,3 ml par flacon
Composant	Ingrédient du réactif
Chlorure de guanidinium	25 - 50 %
Urée	25 - 50 %
Dodécylsulfate de sodium	< 2 %
Réactif de lavage	10 x 2,9 ml par ampoule
Composant	Ingrédient du réactif
Éthanol	< 50 %
Thiocyanate de guanidinium	< 50 %

Xpert NPM1 Mutation Cartouches avec tubes réactionnels intégrés		10 par kit
Composant	Ingrédient du réactif	Montant
Bille 1 (lyophilisée)	Enzyme : Taq ADN polymérase < 50 U/bille	1 par cartouche
	dNTPs < 0,05 %	
Bille 2 (lyophilisée)	Amorces et sondes < 0,005 %	1 par cartouche
Bille 3 (lyophilisée)	Amorces et sondes < 0,005 %	1 par cartouche
Bille 4 (lyophilisée)	Enzyme : Taq ADN polymérase < 50 U/bille	1 par cartouche
	dNTPs < 0,05 %	
Réactif de rinçage	Chlorure de potassium < 4 %	2 ml par cartouche
	Azide de sodium < 0,1 %	
	Polyéthylène glycol < 40 %	
	Tween 20 < 0,2 %	
Réactif d'éluion	Base Trizma < 0,3 %	2,5 ml par cartouche
	Hydrochlorure de Trizma < 0,1 %	
	Azide de sodium < 0,05 %	

CD**1 par kit**

- Fichier de définition du test (Assay Definition File, ADF)
- Instructions pour l'importation du fichier ADF dans le logiciel GeneXpert
- Notice d'utilisation

Remarque

La sérum-albumine bovine (bovine serum albumin, BSA) des billes de ce produit a été produite et fabriquée exclusivement à partir de plasma bovin provenant des États-Unis. Les animaux n'ont pas été alimentés par des protéines de ruminant ou d'autres protéines animales ; ils ont subi avec succès les analyses ante- et post-mortem. Pendant la fabrication, le produit n'a été mélangé à aucun autre produit d'origine animale.

Remarque

Les certificats d'analyse et les fiches de données de spécification de lot sont disponibles auprès du Support Technique de Cepheid.

7 Matériel requis mais non fourni

- GeneXpert Dx System (le numéro de référence dépend de la configuration) : instrument GeneXpert, ordinateur, lecteur de code-barres, manuel d'utilisation.
- Pour GeneXpert Dx System : logiciel GeneXpert Dx version 6.2 ou ultérieure.
- Imprimante : si une imprimante est requise, contacter le Support Technique de Cepheid pour organiser l'achat d'une imprimante recommandée.
- Agitateur à vortex
- Microcentrifugeuse (1 000 x g minimum)
- Pipettes et embouts de pipettes à filtre anti-aérosol
- Tubes coniques de 50 ml
- Éthanol absolu de qualité réactif
- PBS 1X, pH 7,4

8 Conservation et manipulation

- Stocker le contenu du kit Xpert NPM1 Mutation à une température comprise entre 2 et 8 °C jusqu'à la date de péremption indiquée sur l'étiquette.
- Ne pas ouvrir le couvercle de la cartouche avant d'être prêt à réaliser le test.

- Ne pas utiliser les cartouches au-delà de la date de péremption.
- Ne pas utiliser une cartouche qui a fui.
- Le réactif de lavage est un liquide limpide et incolore. Ne pas utiliser le réactif de lavage s'il est devenu trouble ou s'il est décoloré.
- Vingt (20) minutes avant de commencer la procédure, retirer l'échantillon de sang, la cartouche et les réactifs de préparation des échantillons de leur lieu de stockage pour les laisser s'équilibrer à température ambiante (20 °C à 30 °C).

9 Avertissements et mises en garde

9.1 Général

- Réservé à un usage de diagnostic *in vitro*.
- Traiter tous les échantillons biologiques, y compris les cartouches et les réactifs usagés, comme s'ils étaient susceptibles de transmettre des agents infectieux. Puisqu'il est souvent impossible de savoir ce qui peut être infectieux, tous les échantillons biologiques doivent être traités en respectant les précautions standard.
- Les U.S. Centers for Disease Control and Prevention (Centres pour le contrôle et la prévention des maladies aux États-Unis)⁶ et le Clinical and Laboratory Standards Institute (Institut des normes cliniques et de laboratoire) tiennent à disposition des directives concernant la manipulation des échantillons.⁷
- Respecter les procédures de sécurité établies par l'établissement pour la manipulation de produits chimiques et d'échantillons biologiques.
- Les caractéristiques des performances de ce test ont été établies avec du sang prélevé dans des tubes avec EDTA uniquement. Le fonctionnement du test n'a pas été évalué avec d'autres types d'échantillons.
- L'obtention de résultats fiables dépend du prélèvement, du transport, de la conservation et du traitement corrects des échantillons. Des résultats de test erronés peuvent se produire en raison du prélèvement, de la manipulation ou de la conservation incorrects des échantillons, d'une erreur technique, d'une confusion dans les échantillons ou d'un transcrite cible dans l'échantillon inférieur à la limite de détection du test. Il est nécessaire de bien respecter la notice d'utilisation et le *GeneXpert Dx System Operator Manual* pour éviter des résultats erronés.
- Réaliser le test Xpert NPM1 Mutation en dehors des plages recommandées de température et de durée de conservation du kit ou des échantillons peut produire des résultats erronés ou non valides.
- Les échantillons biologiques, les dispositifs de transfert et les cartouches usagées doivent être considérés capables de transmettre des agents infectieux exigeant des précautions standard. Suivre les procédures environnementales d'élimination des déchets de l'établissement pour l'élimination appropriée des cartouches usagées et des réactifs inutilisés. Ces matériaux peuvent présenter des caractéristiques de déchets chimiques dangereux exigeant des procédures d'élimination spécifiques au niveau national ou régional. En l'absence de directives claires de la réglementation nationale ou régionale sur l'élimination appropriée, les échantillons biologiques et les cartouches usagées doivent être éliminés conformément aux directives de manipulation et d'élimination des déchets médicaux de l'OMS (Organisation Mondiale de la Santé).⁸

9.2 Échantillon

- Maintenir des conditions de conservation correctes afin d'assurer leur intégrité (voir Section 11, Prélèvement et conservation des échantillons). La stabilité des échantillons n'a pas été évaluée dans d'autres conditions d'expédition que celles qui sont recommandées.
- Ne pas congeler l'échantillon de sang périphérique EDTA.
- Le prélèvement, la conservation et le transport appropriés de l'échantillon sont essentiels pour obtenir des résultats corrects.

9.3 Test/Réactif


- Ne pas remplacer les réactifs du test Xpert NPM1 Mutation par d'autres réactifs.
- Ne pas ouvrir le couvercle de la cartouche du test Xpert NPM1 Mutation, sauf pour l'ajout de l'échantillon et du réactif de lavage.
- Ne pas utiliser une cartouche qui est tombée après l'avoir retirée de son emballage.
- Ne pas agiter la cartouche. L'agitation ou la chute de la cartouche après l'ouverture de son couvercle peut conduire à des résultats non valides.
- Ne pas placer l'étiquette du n° Id de l'échantillon sur le couvercle ou sur l'étiquette à code-barres de la cartouche.

- Ne pas utiliser une cartouche dont l'étiquette à code-barres est endommagée.
- Ne pas utiliser une cartouche dont le tube réactionnel est endommagé.
- Il est recommandé que les cartouches Xpert NPM1 Mutation soient à température ambiante (20 °C à 30 °C) lorsqu'elles sont utilisées pour réaliser des tests.
- Chaque cartouche Xpert NPM1 Mutation à usage unique est utilisée pour effectuer un seul test. Ne pas réutiliser des cartouches usagées.
- Transférer la totalité du contenu d'une (1) ampoule de réactif de lavage dans la chambre pour réactif de lavage. Le fait de ne pas ajouter de réactif de lavage peut entraîner un faux résultat **NON DÉTECTÉ (NOT DETECTED)**.
- Ne pas réutiliser les embouts de pipette.
- Ne pas utiliser une cartouche si elle semble humide ou si son couvercle semble avoir été descellé.
- Ne pas utiliser la cartouche Xpert NPM1 Mutation si un réactif est ajouté dans la mauvaise ouverture.
- Ne pas ouvrir les cartouches Xpert NPM1 Mutation une fois le test terminé.
- Dédier un jeu de pipettes et de réactifs uniquement à la préparation des échantillons.
- Porter une blouse de laboratoire propre et des gants. Changer de gants entre chaque échantillon.
- En cas de renversement d'échantillons ou de contrôles, porter des gants et absorber le produit à l'aide de papier absorbant. Puis nettoyer minutieusement la zone contaminée avec une dilution au 1/10e d'eau de Javel domestique fraîchement préparée. La concentration finale en chlore actif doit être de 0,5 %, quelle que soit la concentration de l'eau de Javel domestique dans le pays concerné. Laisser en contact pendant deux minutes au minimum.
- S'assurer que la zone de travail est sèche avant d'utiliser de l'éthanol dénaturé à 70 % pour éliminer les résidus d'eau de Javel. Laisser complètement sécher la surface avant de continuer. Il est également possible de suivre les procédures standard de l'établissement en cas de contamination ou de renversement. Pour le matériel, suivre les recommandations du fabricant relatives à la décontamination.

10 Risques chimiques

Remarque

Les informations ci-dessous s'appliquent à tout le produit contenant les réactifs protéinase K, de lyse, de lavage et de rinçage.

- Pictogramme de danger CLP/GHS: 
- Mention d'avertissement : DANGER
- **Mentions de danger SGH ONU**
 - Liquide et vapeur très inflammable H225.
 - Provoque une irritation cutanée H315.
 - Provoque une sévère irritation des yeux H319.
 - Peut provoquer somnolence ou vertiges H336.
 - Susceptible d'induire des anomalies génétiques H341.
- **Conseils de prudence SGH ONU**
 - **Prévention**
 - Se reporter à la fiche de données de sécurité pour obtenir des instructions spéciales avant utilisation.
 - Se procurer les instructions avant utilisation.
 - Ne pas manipuler avant d'avoir lu et compris toutes les précautions de sécurité.
 - Tenir à l'écart de la chaleur, des étincelles, des flammes nues et/ou des surfaces chaudes. Ne pas fumer.
 - Maintenir le récipient fermé de manière étanche.
 - Éviter de respirer les brouillards/vapeurs/aérosols.
 - Se laver soigneusement après manipulation.
 - Utiliser seulement en plein air ou dans un endroit bien ventilé.
 - Porter des gants de protection/des vêtements de protection/un équipement de protection des yeux/du visage.
 - Utiliser l'équipement de protection individuel requis.
 - **Réponse**
 - En cas D'INCENDIE : utiliser les moyens appropriés pour l'extinction.
 - EN CAS D'INHALATION : transporter la personne à l'extérieur et la maintenir dans une position où elle peut confortablement respirer.
 - Appeler un CENTRE ANTIPOISON ou un médecin en cas de malaise.

- EN CAS DE CONTACT AVEC LA PEAU (ou les cheveux) : enlever immédiatement tous les vêtements contaminés. Rincer la peau à l'eau/se doucher.
- Traitement spécifique, voir les instructions supplémentaires de premiers secours.
- Enlever les vêtements contaminés et les laver avant réutilisation.
- En cas d'irritation cutanée : consulter un médecin.
- EN CAS DE CONTACT AVEC LES YEUX : rincer avec précaution à l'eau pendant plusieurs minutes. Enlever les lentilles de contact si la victime en porte et si elles peuvent être facilement enlevées. Continuer à rincer.
- Si l'irritation des yeux persiste : consulter un médecin.
- En cas d'exposition prouvée ou suspectée : consulter un médecin.
- **Stockage/Mise au rebut**
 - Tenir au frais.
 - Stocker dans un endroit bien ventilé.
 - Maintenir le récipient fermé de manière étanche.
 - Garder sous clef.
 - Éliminer le contenu et/ou le récipient conformément aux réglementations locales, régionales, nationales, et/ou internationales.

11 Prélèvement et conservation des échantillons

- Les échantillons de sang périphérique doivent être prélevés dans des tubes avec EDTA conformément aux directives de l'établissement. Le plasma ne doit pas être séparé des cellules.
- Les échantillons doivent être conservés entre 2 et 8 °C pendant un maximum de 3 jours (72 heures) avant les tests.
- Le prélèvement et la conservation appropriés de l'échantillon sont essentiels pour le fonctionnement du test. La stabilité des échantillons dans des conditions de stockage autres que celles indiquées à la Section 12, Procédure ci-dessous n'a pas été évaluée avec le test Xpert NPM1 Mutation.

12 Procédure

12.1 Avant de commencer

Vingt (20) minutes avant de commencer la procédure, sortir l'échantillon de sang, les réactifs de préparation de l'échantillon et les cartouches du réfrigérateur pour les laisser s'équilibrer à température ambiante. Centrifuger brièvement la protéinase K (PK) dans une microcentrifugeuse.

Important

Démarrer le test dans l'heure qui suit l'ajout de l'échantillon traité avec le réactif pour échantillon à la cartouche.

Important

Sortir la cartouche de l'emballage en carton avant de préparer l'échantillon. (Consulter la Section 12.3, Préparation de la cartouche).

12.2 Préparation de l'échantillon

12.2.1 Préparation de l'échantillon avec une numération de globules blancs inconnue ou d'échantillons avec moins de 30 millions de globules blancs/ml

1. Au fond d'un nouveau tube conique étiqueté de 50 ml, ajouter 100 µl de protéinase K (PK).
2. S'assurer que l'échantillon de sang est bien mélangé en inversant le tube de prélèvement de sang 8 fois immédiatement avant le pipetage. Consulter les instructions du fabricant pour le tube de prélèvement sanguin EDTA.
3. Dans le tube contenant déjà la PK, ajouter 4 ml d'échantillon sanguin.
4. Mélanger l'échantillon à l'aide d'un agitateur à vortex en continu pendant 3 secondes à vitesse maximale.
5. Incuber à température ambiante pendant 1 minute.
6. Au même tube, ajouter 2,5 ml de réactif de lyse (LY).

Remarque Conserver le réactif de lyse restant pour l'utiliser à nouveau à l'étape 13.

7. Mélanger l'échantillon à l'aide d'un agitateur à vortex en continu pendant 10 secondes à vitesse maximale.
8. Incuber à température ambiante pendant 5 minutes.
9. Mélanger l'échantillon à l'aide d'un agitateur à vortex en continu pendant 10 secondes à vitesse maximale.
10. Incuber à température ambiante pendant 5 minutes.
11. Mélanger l'échantillon en tapotant 10 fois le fond du tube.
12. Transférer 1 ml du lysat préparé dans un nouveau tube conique étiqueté de 50 ml.

Remarque Stocker le lysat restant entre 2 et 8 °C pendant un délai maximum de 48 heures ou stocker à -20 °C, ou moins, jusqu'à 1 mois.

13. Dans le nouveau tube conique contenant le lysat, ajouter 1,5 ml du LY conservé à l'étape 6.
14. Mélanger l'échantillon à l'aide d'un agitateur à vortex en continu pendant 10 secondes à vitesse maximale.
15. Incuber à température ambiante pendant 10 minutes.
16. Au même tube conique, ajouter 2 ml d'éthanol absolu de qualité réactif (fourni par l'utilisateur).
17. Mélanger l'échantillon à l'aide d'un agitateur à vortex en continu pendant 10 secondes à vitesse maximale. Mettre de côté.
18. Éliminer les réactifs PK ou LY restants.

12.2.2 Préparation de l'échantillon avec une numération de globules blancs égale ou supérieure à 30 millions de globules blancs/ml

1. Au fond d'un nouveau tube conique de 50 ml, ajouter 100 µl de PK.
2. S'assurer que l'échantillon de sang est bien mélangé en inversant le tube de prélèvement de sang 8 fois immédiatement avant le pipetage. Consulter les instructions du fabricant pour le tube de prélèvement sanguin EDTA.
3. Dans le tube contenant déjà la PK, ajouter 250 µl d'échantillon de sang et 3,75 ml de PBS 1X (pH7,4, fourni par l'utilisateur).
4. Mélanger l'échantillon à l'aide d'un agitateur à vortex en continu pendant 3 secondes à vitesse maximale.
5. Incuber à température ambiante pendant 1 minute.
6. Suivre les étapes 6 à 17 dans Section 12.2.1 pour effectuer le lysat final.
7. Éliminer les réactifs PK ou LY restants.

12.3 Préparation de la cartouche

Pour ajouter l'échantillon à la cartouche Xpert NPM1 Mutation :

1. Sortir la cartouche de l'emballage en carton.
2. Examiner la cartouche pour vérifier qu'elle n'est pas endommagée. Si elle est endommagée, ne pas l'utiliser.
3. Ouvrir la cartouche en soulevant son couvercle et transférer la totalité du contenu d'une (1) ampoule de réactif de lavage dans la chambre de réactif de lavage (avec la petite ouverture). Voir Figure 1.
4. Pipeter le contenu tout entier de l'échantillon préparé (4,5 ml) dans la chambre à échantillon (grande ouverture). Voir Figure 1.

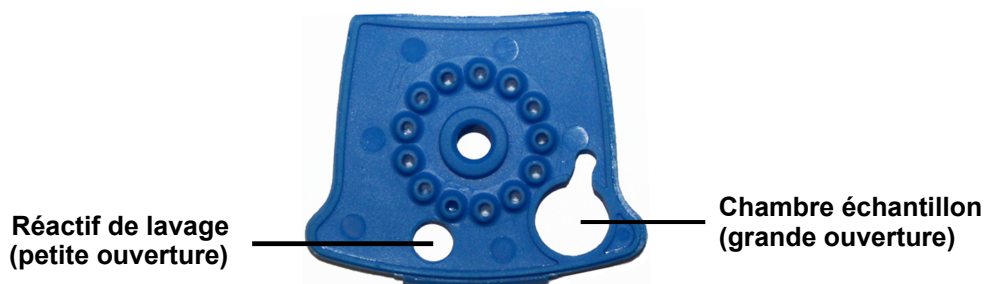


Figure 1. Xpert NPM1 Mutation Cartouche (vue de dessus)

5. Fermer le couvercle de la cartouche. S'assurer que le couvercle s'enclenche fermement en place. Lancer le test (voir la Section 12.4, Démarrage du test).

12.4 Démarrage du test

Important Avant de démarrer le test, vérifiez que le système utilise le logiciel GeneXpert Dx version 6.2 ou ultérieure et que le fichier de définition du test correct est importé dans le logiciel. Cette section indique les étapes par défaut pour utiliser le GeneXpert Dx System.

Remarque Les étapes à suivre peuvent être différentes si l'administrateur du système a modifié le schéma opérationnel par défaut du système.

1. Mettre le système GeneXpert en marche en allumant d'abord l'instrument GeneXpert Dx, puis l'ordinateur. Le logiciel GeneXpert Dx se lancera automatiquement ou nécessitera un double-clic sur l'icône de raccourci du logiciel GeneXpert Dx sur le bureau Windows®.
2. Se connecter au logiciel GeneXpert en utilisant le nom d'utilisateur et le mot de passe.
3. Dans la fenêtre du **système GeneXpert**, cliquer sur **Créer un test (Create Test)** (GeneXpert Dx). La fenêtre **Créer un test (Create Test)** s'affiche.
4. Lire ou saisir l'ID patient (N° Id du patient). S'assurer, le cas échéant, de saisir correctement le n° Id du patient (Patient ID). Le N° Id du patient (Patient ID) est associé aux résultats du test et est affiché dans la fenêtre **Afficher les résultats (View Results)**, ainsi que dans tous les rapports. La boîte de dialogue **Lire le code-barres du n° Id de l'échantillon (Scan Sample ID Barcode)** s'affiche.
5. Lire ou saisir le n° Id de l'échantillon (Sample ID). S'assurer, le cas échéant, de saisir correctement le n° Id de l'échantillon (Sample ID). Le n° Id de l'échantillon (Sample ID) est affiché sur le côté gauche de la fenêtre **Afficher les résultats (View Results)** et dans tous les rapports. La boîte de dialogue **Lire le code-barres de la cartouche (Scan Cartridge Barcode)** s'ouvre.
6. Lire le code-barres sur la cartouche Xpert NPM1 Mutation. Grâce aux informations du code-barres, le logiciel remplit automatiquement les cases des champs suivants : N° du lot de réactif (Reagent Lot ID), Numéro de série de la cartouche (Cartridge SN) et Date de péremption (Expiration Date).

Remarque S'il n'est pas possible de scanner le code-barres sur la cartouche Xpert NPM1 Mutation, refaire le test avec une nouvelle cartouche. Une fois le code-barres de la cartouche scanné dans le logiciel, si le fichier de définition du test n'est pas disponible, un écran indiquant que le fichier de définition du test n'est pas chargé sur le système s'affiche. Si l'écran apparaît, contacter le service du Support Technique de Cepheid.

7. Cliquer sur **Démarrer le test (Start Test)**. Il faudra peut-être saisir votre mot de passe dans la boîte de dialogue qui apparaît.
8. Ouvrir la porte du module de l'instrument avec le voyant vert clignotant et charger la cartouche.
9. Fermer la porte. Le test démarre et le voyant vert arrête de clignoter. Lorsque le test est terminé, le voyant s'éteint.
10. Attendre que le système déverrouille la porte du module avant de l'ouvrir et de retirer la cartouche.
11. Éliminer les cartouches usagées dans un conteneur à déchets pour échantillons approprié, conformément aux pratiques standard de l'établissement.

Remarque Le délai d'obtention des résultats est inférieur à 3 heures (environ 30 minutes de préparation d'échantillon externe et moins de 2 heures et 30 minutes d'analyse).

13 Affichage et impression des résultats

Cette section énumère les étapes de base pour l'affichage et l'impression des résultats. Pour des instructions plus détaillées sur l'affichage et l'impression des résultats, consulter le *GeneXpert Dx System Operator Manual*.

- Cliquer sur l'icône **Afficher les résultats (View Results)** pour afficher les résultats.
- Une fois le test terminé, cliquer sur le bouton **Rapport (Report)** de l'écran **Afficher les résultats (View Results)** pour afficher et/ou créer un fichier de rapport au format PDF.

14 Contrôle qualité

Chaque cartouche contient un contrôle endogène ABL1 et un contrôle de vérification des sondes (CVS).

Contrôle endogène ABL1 — le contrôle endogène ABL1 vérifie que la quantité suffisante d'échantillon est utilisée avec le test. Ce contrôle détecte également l'inhibition du test de PCR en temps réel associée à l'échantillon. L'ABL1 réussit s'il répond aux critères d'acceptation attribués.

Contrôle de vérification des sondes (CVS) – avant le début de la réaction PCR, le système GeneXpert mesure le signal de fluorescence des sondes pour surveiller la réhydratation des billes, le remplissage des tubes réactionnels et si tous les composants des réactifs sont fonctionnels dans la cartouche. Le CVS réussit s'il répond aux critères d'acceptation attribués.

15 Interprétation des résultats

Les résultats sont automatiquement interprétés par le système GeneXpert à partir de signaux fluorescents mesurés et d'algorithmes de calcul intégrés, puis sont affichés dans la fenêtre Afficher les résultats (View Results). Tous les résultats et interprétations possibles sont indiqués dans le Tableau 1.

Tableau 1. Xpert NPM1 Mutation Résultats et interprétation du test

Résultat	Interprétation
<p>NPM1 mutante DÉTECTÉE (NPM1 Mutation DETECTED)</p> <p>Voir Figure 2, Figure 3, Figure 4</p>	<p>Le transcrit de la NPM1 mutante a été détecté.</p> <ul style="list-style-type: none"> NPM1 mutante DÉTECTÉE (NPM1 Mutation DETECTED) – le transcrit de la NPM1 mutante a été détecté et présente un cycle seuil (Ct) dans la plage de validation et un point final supérieur au seuil défini. Résultats possibles détectés : <ul style="list-style-type: none"> NPM1 MUTANTE DÉTECTÉE [# , ## %] (NPM1 MUTATION DETECTED [# . ## %]) ; Figure 2. NPM1 MUTANTE DÉTECTÉE [supérieure à la LDQ] (NPM1 MUTATION DETECTED [Above upper LoQ]) ; Figure 3. NPM1 MUTANTE DÉTECTÉE [inférieure à la LDD ; <# , ### %] (NPM1 MUTATION DETECTED [Below LoD ; # . ### %]) ; Figure 4. ABL RÉUSSITE (ABL PASS) – Le transcrit ABL a été détecté et a un cycle seuil (Ct) dans la plage de validation et un point final supérieur au seuil défini. Vérification des sondes RÉUSSITE (Probe Check PASS) ; tous les résultats de vérification de la sonde ont réussi.
<p>NPM1 mutante NON DÉTECTÉE (NPM1 Mutation NOT DETECTED)</p> <p>Voir Figure 5</p>	<p>Le transcrit de la NPM1 mutante n'a pas été détecté.</p> <ul style="list-style-type: none"> NPM1 mutante NON DÉTECTÉE [Transcrit ABL suffisant] (NPM1 Mutation NOT DETECTED [Sufficient ABL transcript]) - le transcrit de la NPM1 mutante n'a pas été détecté et présente un cycle seuil (Ct) nul ou supérieur à l'extrémité supérieure de la plage de validation et/ou un point final inférieur au seuil défini. ABL RÉUSSITE (ABL PASS) – Le transcrit ABL a été détecté et a un cycle seuil (Ct) dans la plage de validation et un point final supérieur au seuil défini. Vérification des sondes RÉUSSITE (Probe Check PASS) ; tous les résultats de vérification de la sonde ont réussi.
<p>NON VALIDE (INVALID)</p> <p>Voir Figure 6, Figure 7, Figure 8, Figure 9, Figure 10</p>	<p>Le niveau de transcrit de la NPM1 mutante ne peut être déterminé, car l'échantillon contient un excès de transcrit de la NPM1 mutante et/ou un excès ou une insuffisance de transcrit ABL. Voir Section 18, Guide de dépannage, pour obtenir des instructions supplémentaires pour retester l'échantillon.</p> <ul style="list-style-type: none"> NPM1 mutante NON VALIDE (NPM1 Mutation INVALID) - le cycle seuil (Ct) de NPM1 était supérieur à zéro et inférieur à l'extrémité inférieure de la plage de validation (Figure 8, Figure 9) ABL ÉCHEC (ABL FAIL) – le cycle seuil (Ct) d'ABL n'était pas dans la plage de validation ou le point final était en dessous du seuil défini (Figure 6, Figure 7, Figure 8, Figure 10) Vérification des sondes – RÉUSSITE (Probe Check – PASS) ; tous les résultats de vérification des sondes ont réussi.

Résultat	Interprétation
<p>ERREUR (ERROR) Voir Figure 11</p>	<p>Le niveau de transcrit de la NPM1 mutante ne peut pas être déterminé. Voir Section 18, Guide de dépannage, pour obtenir des instructions supplémentaires pour retester l'échantillon.</p> <ul style="list-style-type: none"> ● NPM1 mutante PAS DE RÉSULTAT (NPM1 Mutation NO RESULT) ● ABL PAS DE RÉSULTAT (ABL NO RESULT) ● Vérification des sondes ÉCHEC (Probe Check FAIL) – échec d'un ou de tous les résultats de vérification des sondes. ● Vérification des sondes RÉUSSITE (PASS) ou SO (NA) (sans objet) et annulation due à la pression*. <p>* Si la vérification des sondes a réussi, l'erreur est due au dépassement de la limite de pression maximale au-delà de la plage acceptable ou à la défaillance d'un composant du système.</p>
<p>PAS DE RÉSULTAT (NO RESULT)</p>	<p>Le niveau de transcrit de la NPM1 mutante ne peut pas être déterminé. Les données recueillies sont insuffisantes pour produire un résultat de test. Par exemple, cela pourrait arriver si l'opérateur a interrompu un test en cours. Voir Section 18, Guide de dépannage, pour obtenir des instructions supplémentaires pour retester les échantillons.</p> <ul style="list-style-type: none"> ● NPM1 mutante PAS DE RÉSULTAT (NPM1 Mutation NO RESULT) ● ABL PAS DE RÉSULTAT (ABL NO RESULT) ● Vérification des sondes – SO (NA) (sans objet)

16 Résultats quantitatifs

Les résultats quantitatifs du test Xpert NPM1 Mutation sont fournis sous la forme d'un rapport en pourcentage de NPM1 mutante/ABL1. Les kits se voient attribuer des valeurs d'efficacité ($E_{\Delta Ct}$) et de facteur d'échelle (SF) spécifiques au lot qui lient la quantification des transcrits de la NPM1 mutante (A, B et D) et d'ABL1 aux nombres de copies des étalons primaires synthétiques d'ARN transcrit *in vitro* (ARN-IVT) de la NPM1 mutante et d'ABL1.

Tableau 2. Exemples de résultats de test Xpert NPM1 Mutation

Test	NPM1 mutante		ABL		Xpert NPM1 Mutation Résultats de test	Remarques
	Ct	Résultat ^a	Ct	Résultat ^a		
1	5,2	NON VALIDE (INVALID)	5,8	ÉCHEC (FAIL)	NON VALIDE [NPM1 mutante et transcrits ABL trop élevés] (INVALID [Too high NPM1 Mutation and ABL transcripts])	S.O.
2	9	NON VALIDE (INVALID)	5,5	ÉCHEC (FAIL)	NON VALIDE [Transcrits ABL trop élevés] (INVALID [Too high ABL transcripts])	S.O.
3	5,5	NON VALIDE (INVALID)	8,5	RÉUSSITE (PASS)	NON VALIDE [transcrits de la NPM1 mutante trop élevés] (INVALID [Too high NPM1 Mutation transcripts])	S.O.
4	25,0	NON VALIDE (INVALID)	21,8	ÉCHEC (FAIL)	NON VALIDE [Transcrit ABL insuffisant] (INVALID [Insufficient ABL transcript])	S.O.
5	0	NON VALIDE (INVALID)	0	ÉCHEC (FAIL)	NON VALIDE [Aucun transcrit ABL] (INVALID [No ABL transcript])	S.O.
6	8,5	POS	13,6	RÉUSSITE (PASS)	NPM1 MUTANTE DÉTECTÉE [supérieure à la LDQ] (NPM1 MUTATION DETECTED [Above upper LoQ])	S.O.
7	22,5	POS	14,8	RÉUSSITE (PASS)	NPM1 mutante DÉTECTÉE [1,05 %] (NPM1 MUTATION DETECTED [1.05 %])	Valeur rapportée : 1,05 %
8	27,9	POS	14,0	RÉUSSITE (PASS)	NPM1 MUTANTE DÉTECTÉE [inférieure à la LDD ; <0,030 %] (NPM1 MUTATION DETECTED [Below LoD; <0.030%])	S.O.
9	0	NÉG	14,6	RÉUSSITE (PASS)	NÉGATIF [Transcrit ABL suffisant] (NEGATIVE [Sufficient ABL transcript])	S.O.
10	0	PAS DE RÉSULTAT (NO RESULT)	0	PAS DE RÉSULTAT (NO RESULT)	ERREUR (ERROR)	Par exemple, Erreur 5017 (Error 5017) Échec de la vérification des sondes [ABL] ([ABL] probe check failed)

^a Voir l'onglet Résultats de l'analyte (Analyte Results) dans le logiciel du système GeneXpert Dx pour les détails.

16.1 NPM1 Mutation DETECTED [#.##]% (NPM1 mutante DÉTECTÉE [#.##] %)

La NPM1 mutante a été détectée au niveau de #.## %.

Pour un résultat « **NPM1 mutante DÉTECTÉE [#.## %] (NPM1 Mutation DETECTED [#.##%])** », la NPM1 mutante est détectable avec un Ct de NPM1 mutante supérieur ou égal à « 6 » et inférieur ou égal à « 32 » et un Ct ABL supérieur ou égal à « 6 » et inférieur ou égal à « 20 ». Le logiciel GeneXpert calcule le % en utilisant l'équation suivante où la valeur Delta Ct (ΔCt) est obtenue à partir du Ct ABL moins le Ct NPM1 mutante :

$$\% = E_{\Delta Ct}^{(\Delta Ct)} \times 100 \times \text{Facteur d'échelle}$$

Remarque

Le facteur d'échelle (SF) est un paramètre spécifique au lot qui est intégré dans le code-barres de la cartouche de test. La valeur de ce facteur et l'efficacité du test spécifique au lot ($E_{\Delta Ct}$) sont déterminées lors des tests de contrôle qualité de chaque lot de test à l'aide d'étalons principaux étalonnés en fonction du nombre de copies de la NPM1 mutante synthétique et des calibrateurs d'ARN *in vitro* transcrit ABL1 (ARN-IVT) pour la quantification du transcrit de la NPM1 mutante. Le $E_{\Delta Ct}$ est défini à 1,95 et la valeur SF est définie à 1,79 pour une utilisation dans l'exemple indiqué ici.

Exemple : $E_{\Delta Ct}$ spécifique au lot = 1,95 ; SF = 1,79
 Ct ABL du test = 14,5 ; Ct NPM1 mutante = 17,1 ; ΔCt = -2,6
 $\% = 1,95^{(-2,6)} \times 100 \times 1,79 = 31,53\%$

Résultat : **NPM1 mutante DÉTECTÉE [31,53 %] (NPM1 Mutation DETECTED [31.53%])**. Voir Figure 2.

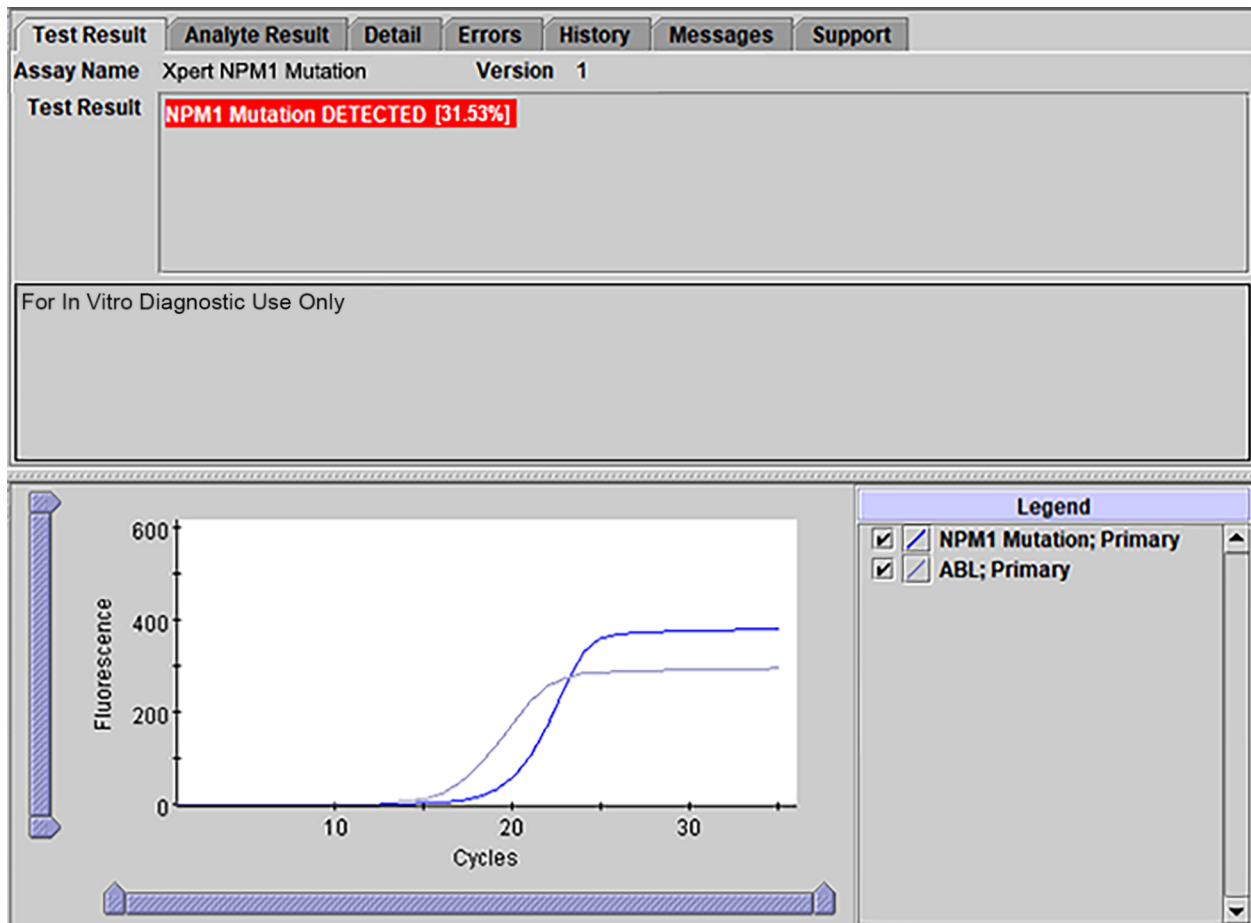


Figure 2. GeneXpert Dx Fenêtre Afficher les résultats (View Results) du NPM1 mutante DÉTECTÉE [31,53 %] (NPM1 Mutation DETECTED [31.53%])

16.2 NPM1 MUTANTE DÉTECTÉE [supérieure à la LDQ] (NPM1 MUTATION DETECTED [Above upper LoQ])

La NPM1 mutante a été détectée à un niveau > 500 %.

Pour un résultat « **NPM1 mutante DÉTECTÉE [supérieure à la LDQ supérieure] (NPM1 Mutation DETECTED [Above upper LoQ])** », la NPM1 mutante est détectable avec un Ct de NPM1 mutante supérieur ou égal à « 6 » et inférieur ou égal à « 32 » et un Ct ABL supérieur ou égal à « 6 » et inférieur ou égal à « 20 ». Le logiciel GeneXpert calcule le % en utilisant l'équation suivante où la valeur Delta Ct (ΔCt) est obtenue à partir du Ct ABL moins le Ct NPM1 mutante :

$$\% = E_{\Delta Ct}^{(\Delta Ct)} \times 100 \times \text{Facteur d'échelle (SF)}$$

Le facteur d'échelle (*SF*) est un paramètre spécifique au lot qui est intégré dans le code-barres de la cartouche de test. La valeur de ce facteur et l'efficacité du test spécifique au lot ($E_{\Delta Ct}$) sont déterminées lors des tests de contrôle qualité de chaque lot de test à l'aide d'étalons principaux étalonnés en fonction du nombre de copies de la NPM1 mutante synthétique et des calibrateurs d'ARN *in vitro* transcrit ABL1 (ARN-IVT) pour la quantification du transcrit de la NPM1 mutante. Le $E_{\Delta Ct}$ est défini à 1,95 et la valeur *SF* est définie à 1,79 pour une utilisation dans l'exemple indiqué ici.

Remarque

Exemple : $E_{\Delta Ct}$ spécifique au lot = 1,95 ; *SF* = 1,79
 Ct ABL du test = 13,4 ; Ct NPM1 mutante = 10,2 ; $\Delta Ct = 3,2$
 $\% = 1,95^{(3,2)} \times 100 \times 1,79 = 1516,92 \%$ est supérieure à la LDQ supérieure du test définie à 500 %

Résultat : **NPM1 MUTANTE DÉTECTÉE [supérieure à la LDQ] (NPM1 MUTATION DETECTED [Above upper LoQ]).** Voir Figure 3.

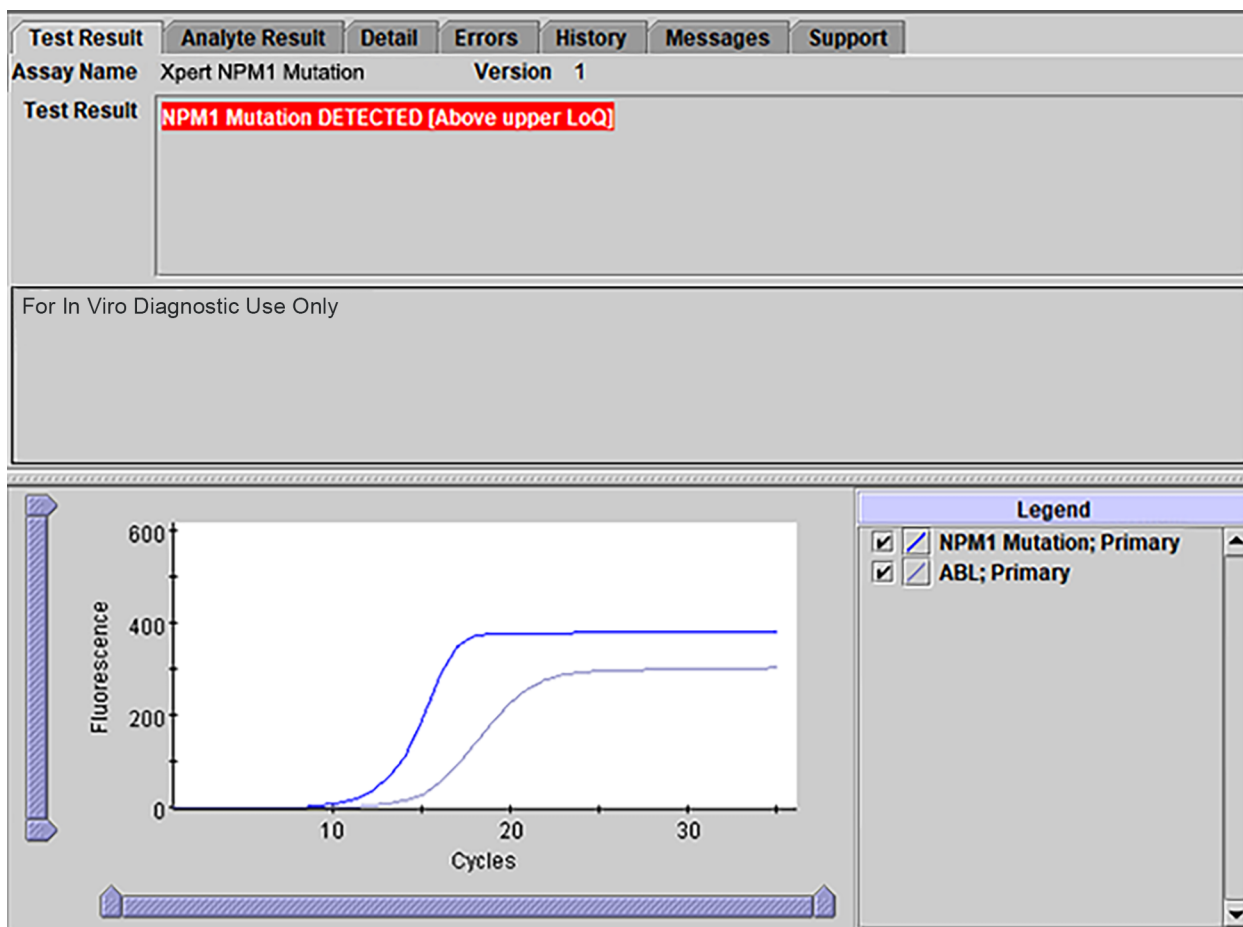


Figure 3. GeneXpert Dx Fenêtre Afficher les résultats (View Results) du NPM1 MUTANTE DÉTECTÉE [supérieure à la LDQ] (NPM1 MUTATION DETECTED [Above upper LoQ])

16.3 NPM1 MUTANTE DÉTECTÉE [inférieure à la LDD ; <0,030 %] (NPM1 MUTATION DETECTED [Below LoD; <0.030%])

La NPM1 mutante a été détecté(e) à un niveau < 0,030 %.

Pour un résultat « **NPM1 mutante DÉTECTÉE [inférieure à la LDD ; <0,030 %] (NPM1 Mutation DETECTED [Below LoQ; <0.030%])** », la NPM1 mutante est détectable avec un Ct de NPM1 mutante supérieur ou égal à « 6 » et inférieur ou égal à « 32 » et un Ct ABL supérieur ou égal à « 6 » et inférieur ou égal à « 20 ». Le logiciel GeneXpert calcule le % en utilisant l'équation suivante où la valeur Delta Ct (ΔCt) est obtenue à partir du Ct ABL moins le Ct NPM1 mutante :

$$\% = E_{\Delta Ct}^{(\Delta Ct)} \times 100 \times \text{Facteur d'échelle (SF)}$$

Le facteur d'échelle (SF) est un paramètre spécifique au lot qui est intégré dans le code-barres de la cartouche de test. La valeur de ce facteur et l'efficacité du test spécifique au lot ($E_{\Delta Ct}$) sont déterminées lors des tests de contrôle qualité de chaque lot de test à l'aide d'étalons principaux étalonnés en fonction du nombre de copies de la NPM1 mutante synthétique et des calibrateurs d'ARN *in vitro* transcrit ABL1 (ARN-IVT) pour la quantification du transcrit de la NPM1 mutante. Le $E_{\Delta Ct}$ est défini à 1,95 et la valeur SF est définie à 1,79 pour une utilisation dans l'exemple indiqué ici.

Remarque

Exemple : $E_{\Delta Ct}$ spécifique au lot = 1,95 ; SF = 1,79
 Ct ABL du test = 14,3 ; Ct NPM1 mutante = 28,8 ; ΔCt = -14,5
 $\% = 1,95^{(-14,5)} \times 100 \times 1,79 = 0,011 \%$ est inférieur à la LDD du test définie à 0,030 %

Résultat : **NPM1 MUTANTE DÉTECTÉE [inférieure à la LDQ ; <0,030 %] (NPM1 MUTATION DETECTED [Below LoD; <0.030%])**. Voir Figure 4.

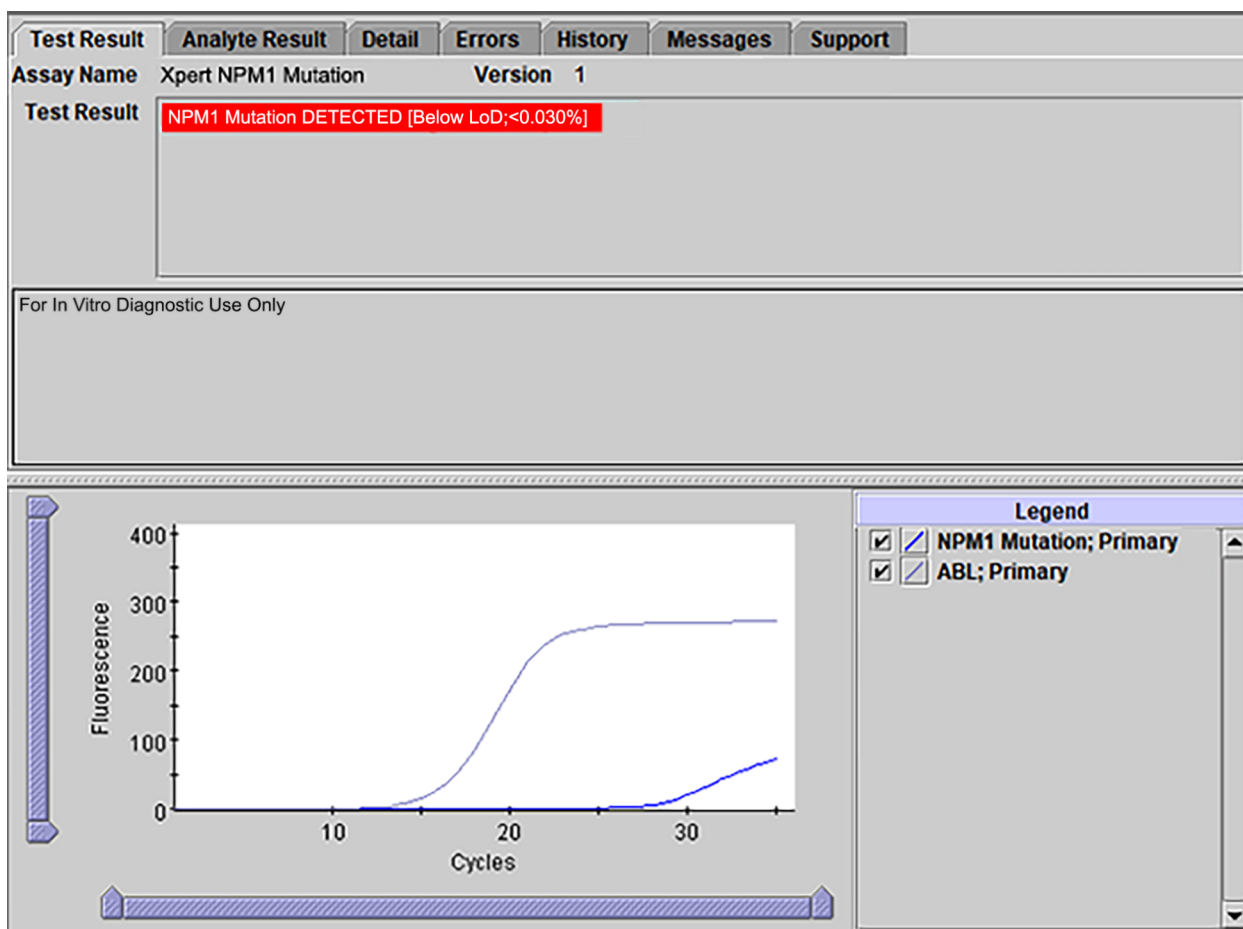


Figure 4. Fenêtre Afficher les résultats (View Results) du système GeneXpert : NPM1 MUTANTE DÉTECTÉE [inférieure à la LDD ; <0,030 %] (NPM1 MUTATION DETECTED [Below LoD; <0.030%])

16.4 NPM1 mutante NON DÉTECTÉE [Transcrit ABL suffisant] (NPM1 Mutation NOT DETECTED [Sufficient ABL transcript])

La NPM1 mutante n'a pas été détectée avec le Ct NPM1 égal à « 0 » ou supérieur à « 32 » et le Ct ABL supérieur à « 6 » et inférieur ou égal à « 20 ».

Le logiciel GeneXpert exige que le Ct ABL soit supérieur ou égal à « 6 » et inférieur ou égal à « 20 » pour que le test Xpert NPM1 Mutation garantisse un « transcrit ABL suffisant ». Voir Section 15, Interprétation des résultats, tableau 1.

Exemple : Le Ct NPM1 mutante du test = 0 ; le Ct ABL = 14,0 est compris entre « 6 » et « 20 ».

Résultat : **NPM1 mutante NON DÉTECTÉE [Transcrit ABL suffisant] (NPM1 Mutation NOT DETECTED [Sufficient ABL transcript]).** Voir Figure 5.

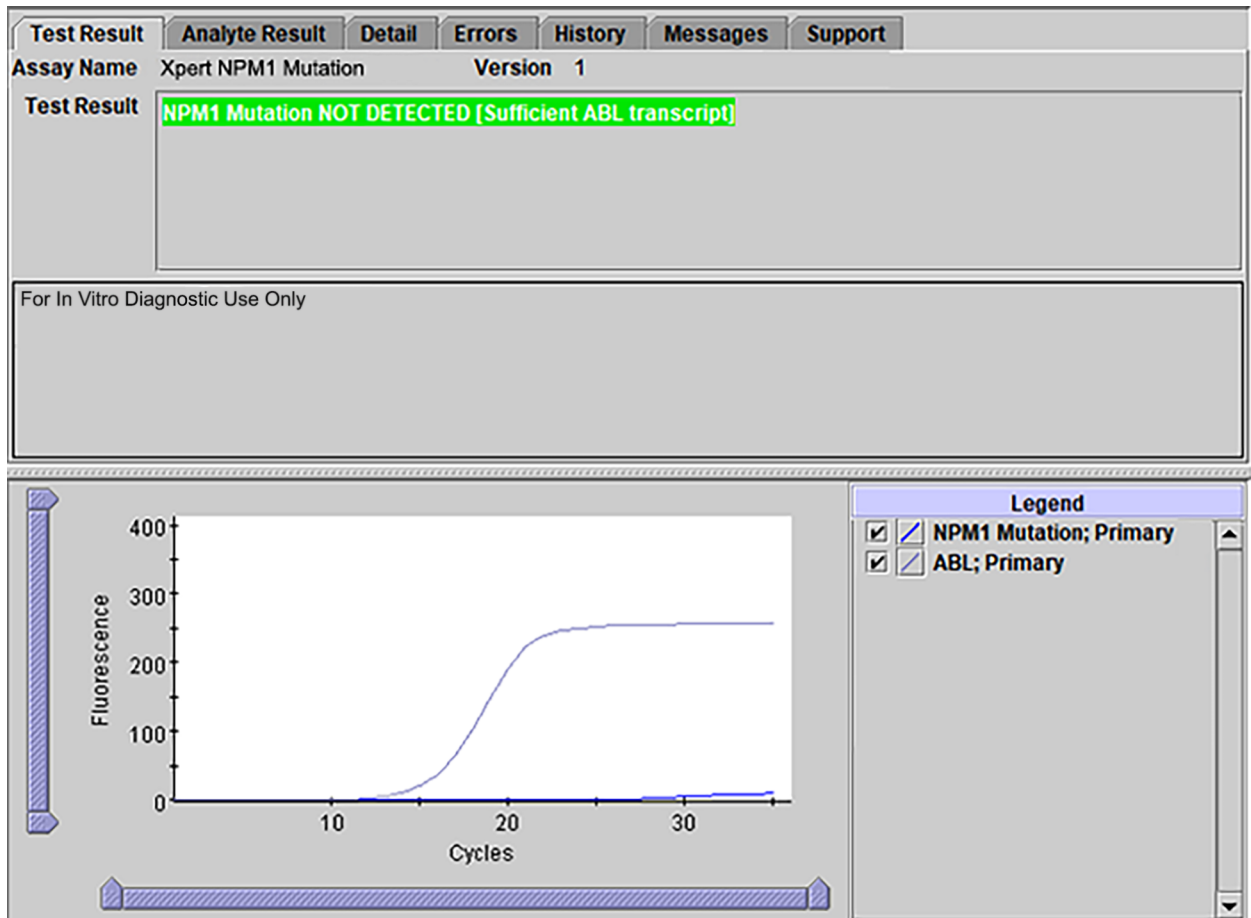


Figure 5. Fenêtre Afficher les résultats (View Results) du système GeneXpert : NPM1 mutante NON DÉTECTÉE [Transcrit ABL suffisant] (NPM1 Mutation NOT DETECTED [Sufficient ABL transcript])

16.5 NON VALIDE [Aucun transcrit ABL] (INVALID [No ABL transcript])

La NPM1 mutante a été détectée ou non avec un Ct ABL égal à « 0 ».

Le logiciel GeneXpert exige que le Ct ABL soit supérieur ou égal à « 6 » et inférieur ou égal à « 20 » pour que le test Xpert NPM1 Mutation garantisse un « transcrit ABL suffisant ». Consulter le Section 18, Guide dépannage.

Exemple : Ct NPM1 mutante du test = 0 ; Ct ABL = 0.

Résultat : **NON VALIDE [Transcrit ABL insuffisant] (INVALID [No ABL transcript]).** Voir Figure 6.

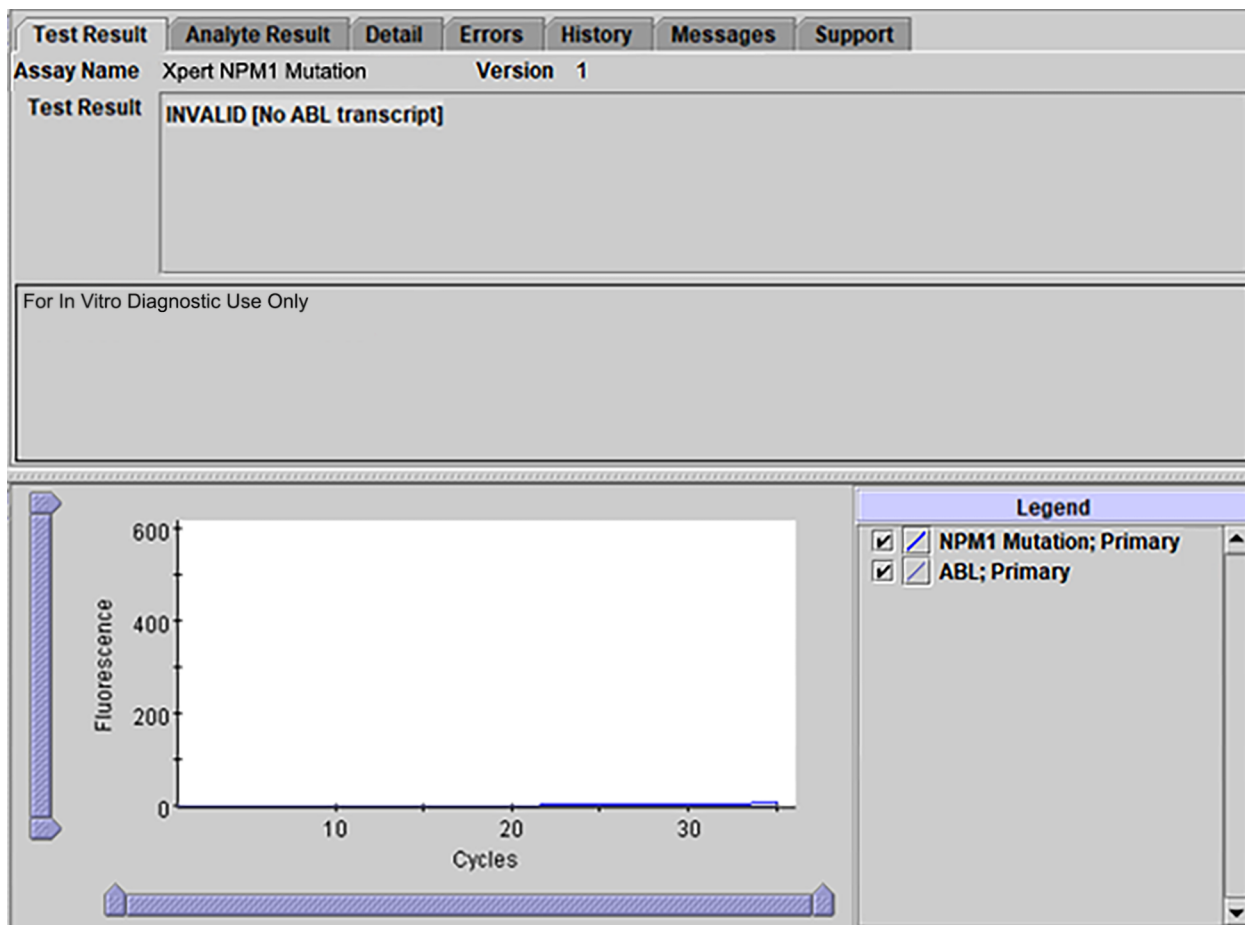


Figure 6. Fenêtre Afficher les résultats (View Results) du système GeneXpert :
NON VALIDE [Aucun transcrit ABL] (INVALID [No ABL transcript])

16.6 NON VALIDE [Transcrit ABL insuffisant] (INVALID [Insufficient ABL transcript])

La NPM1 mutante a été détectée ou non détectée avec le Ct ABL supérieur à « 20 ».

Le logiciel GeneXpert exige que le Ct ABL soit supérieur ou égal à « 6 » et inférieur ou égal à « 20 » pour que le test Xpert NPM1 Mutation garantisse un « transcrit ABL suffisant ». Consulter le Section 18, Guide dépannage.

Exemple : Le Ct NPM1 mutante du test = 33,3 ; le Ct ABL = 20,2 est supérieur à « 20 ».

Résultat : **NON VALIDE [Transcrit ABL insuffisant] (INVALID [Insufficient ABL transcript])**. Voir Figure 7.

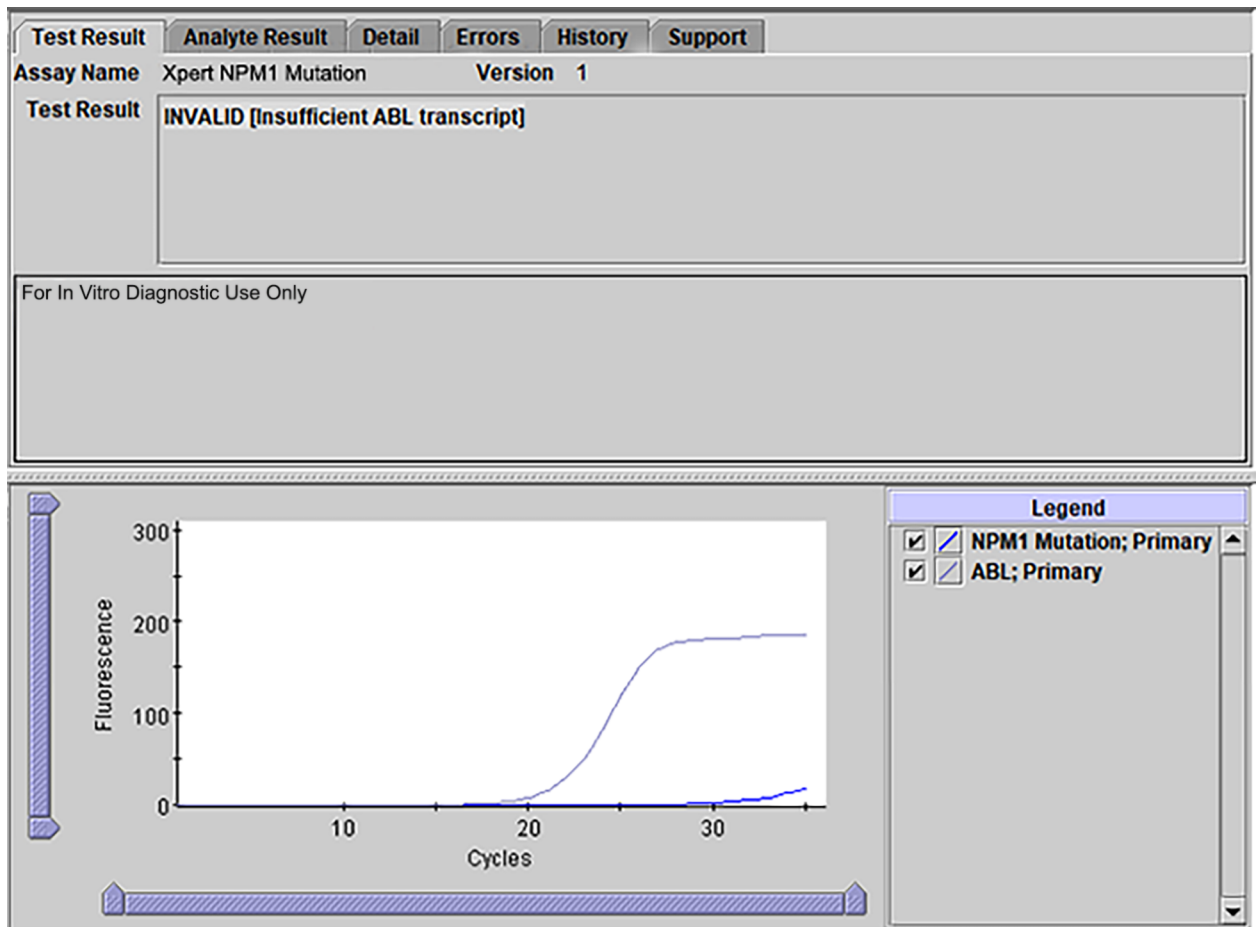


Figure 7. Fenêtre Afficher les résultats (View Results) du système GeneXpert :
NON VALIDE [Transcrit ABL insuffisant] (INVALID [Insufficient ABL transcript])

16.7 NON VALIDE [NPM1 mutante et transcrit ABL trop élevés] (INVALID [Too high NPM1 Mutation and ABL transcript])

La NPM1 mutante a été détectée avec à la fois une NPM1 mutante et des Ct ABL supérieurs à « 0 » et inférieurs à « 6 ».

Le logiciel GeneXpert exige que le Ct ABL soit supérieur ou égal à « 6 » et inférieur ou égal à « 20 » pour que le test Xpert NPM1 Mutation garantisse un « transcrit ABL suffisant ». Consulter le Section 18, Guide dépannage.

Exemple : Le Ct NPM1 mutante du test = 5,4 est supérieur à « 0 » et inférieur à « 6 » ; le Ct ABL = 5,9 est inférieur à « 6 ».

Résultat : **NON VALIDE [NPM1 mutante et transcrit ABL trop élevés] (INVALID [Too high NPM1 Mutation and ABL transcript])**. Voir Figure 8.

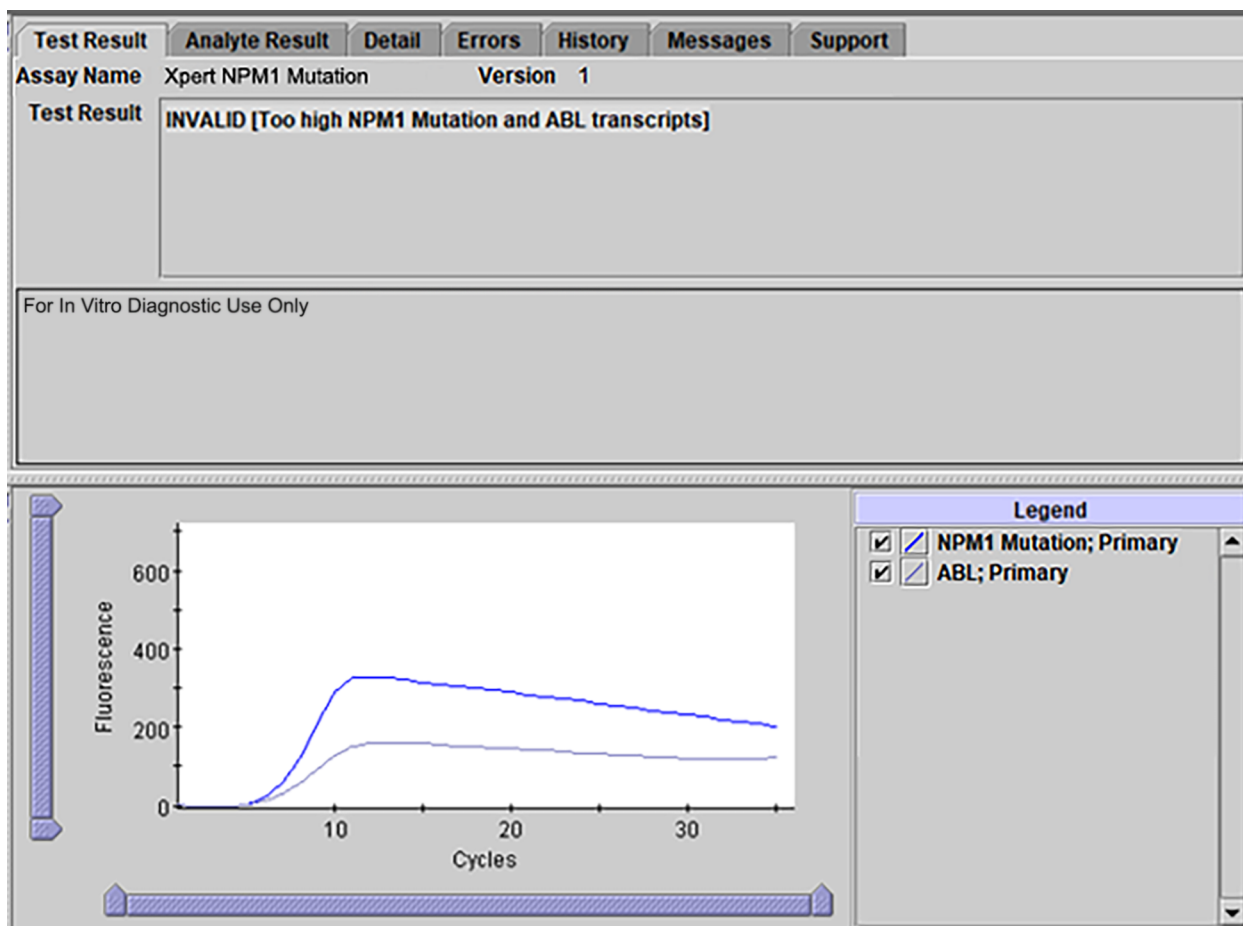


Figure 8. GeneXpert Dx Fenêtre Afficher les résultats (View Results) du NON VALIDE [NPM1 mutante et transcrit ABL trop élevés] (INVALID [Too high NPM1 Mutation and ABL transcript])

16.8 NON VALIDE [transcrit de la NPM1 mutante trop élevé] (INVALID [Too high NPM1 Mutation transcript])

La NPM1 mutante a été détectée avec le Ct NPM1 mutante supérieur à « 0 » et inférieur à « 6 » et le Ct ABL supérieur à « 6 » et inférieur ou égal à « 20 ».

Le logiciel GeneXpert exige que le Ct ABL soit supérieur ou égal à « 6 » et inférieur ou égal à « 20 » pour que le test Xpert NPM1 Mutation garantisse un « transcrit ABL suffisant ». Consulter le Section 18, Guide dépannage.

Exemple : Le Ct NPM1 mutante du test = 5,8 est supérieur à « 0 » et inférieur à « 6 » ; le Ct ABL = 13 est compris entre « 6 » et « 20 ».

Résultat : **NON VALIDE [transcrit de la NPM1 mutante trop élevé] (INVALID [Too high NPM1 Mutation transcript]).** Voir Figure 9.

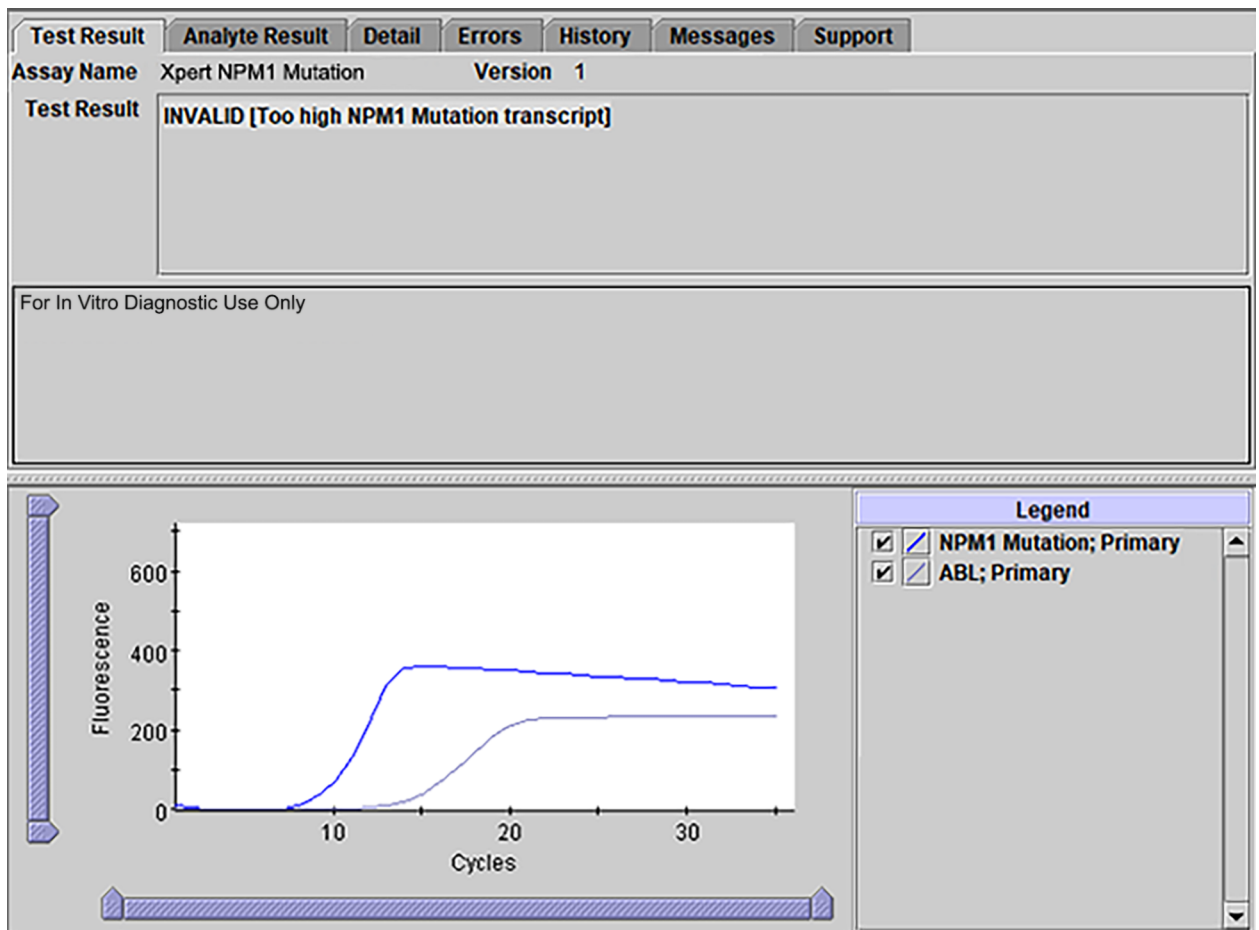


Figure 9. Fenêtre Afficher les résultats (View Results) du système GeneXpert : **NON VALIDE [transcrit de la NPM1 mutante trop élevé] (INVALID [Too high NPM1 Mutation transcript])**

16.9 NON VALIDE [Transcrit de mutation ABL trop élevé] (INVALID [Too high ABL Mutation transcript])

La NPM1 mutante a été détectée avec le Ct NPM1 mutante supérieur à « 6 » et inférieur ou égal à « 32 » et le Ct ABL supérieur à « 0 » et inférieur à « 6 ».

Le logiciel GeneXpert exige que le Ct ABL soit supérieur ou égal à « 6 » et inférieur ou égal à « 20 » pour que le test Xpert NPM1 Mutation garantisse un « transcrit ABL suffisant ». Consulter le Section 18, Guide dépannage.

Exemple : Le Ct NPM1 mutante du test = 13,2 ; Le Ct ABL = 5,8 est inférieur à « 6 ».

Résultat : **NON VALIDE [Transcrit ABL trop élevé] (INVALID [Too high ABL transcript])**. Voir Figure 10.

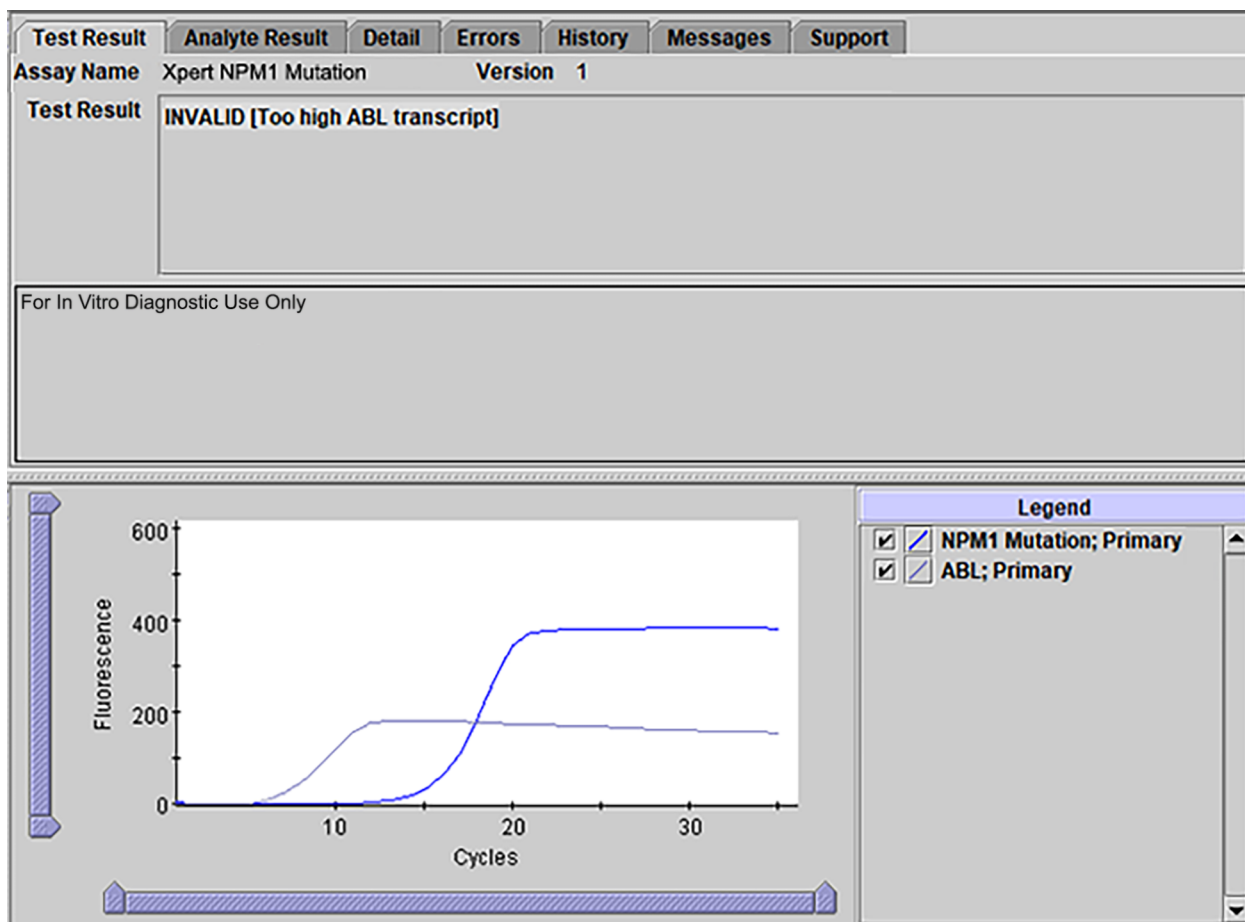


Figure 10. Fenêtre Afficher les résultats (View Results) du système GeneXpert :
NON VALIDE [Transcrit ABL trop élevé] (INVALID [Too high ABL transcript])

16.10 ERREUR (ERROR)

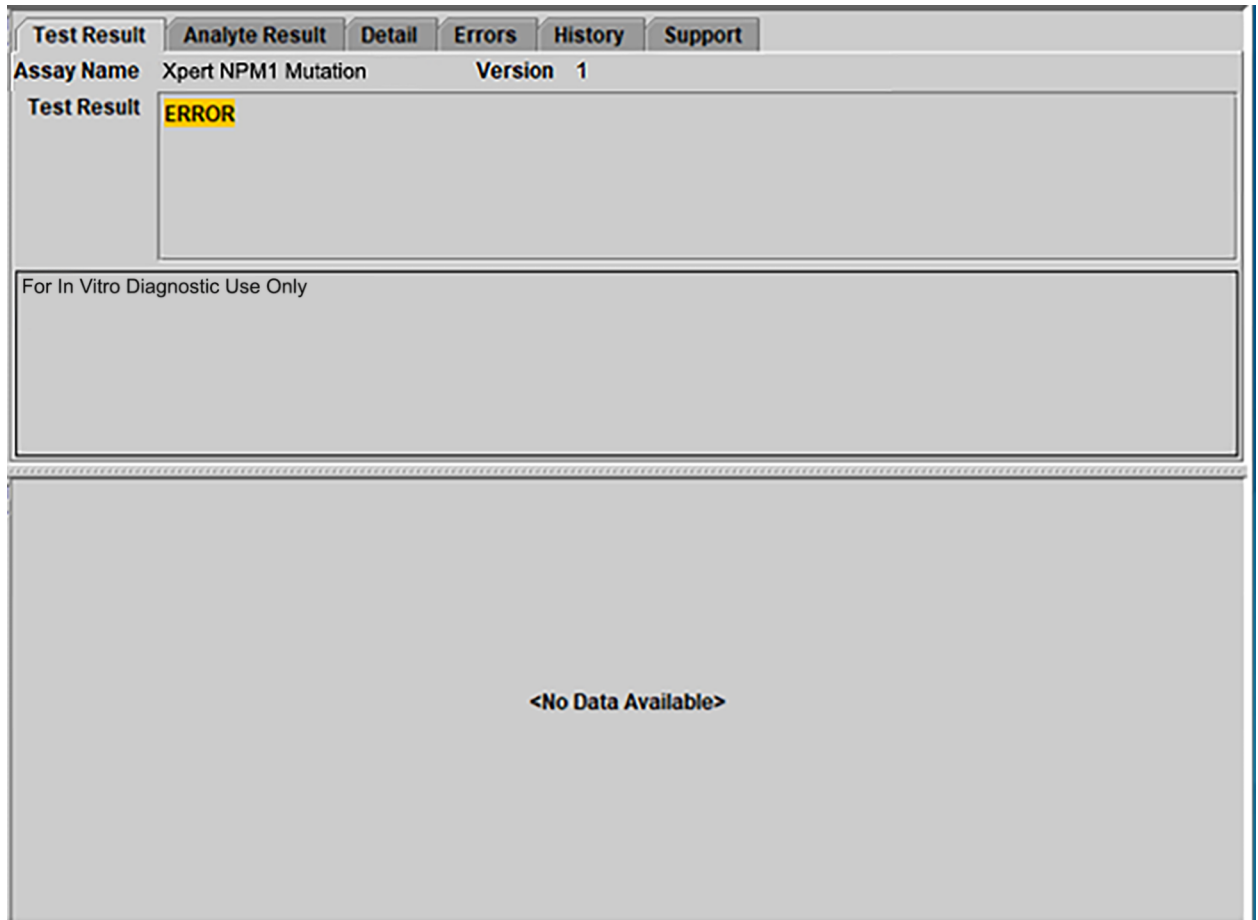


Figure 11. Fenêtre Afficher les résultats (View Results) du système GeneXpert : ERREUR (ERROR)

17 Limites du test

- Le test n'est pas conçu pour être utilisé avec des étalons externes.
- Des modifications apportées à ces procédures peuvent modifier le fonctionnement du test.
- Ce produit a été conçu pour être utilisé avec du sang collecté dans des tubes EDTA uniquement.
- Ne pas utiliser d'héparine comme anticoagulant car elle peut inhiber la réaction par PCR.
- Les types d'échantillon sur citrate de sodium, de couche leuco-plaquettaire et de moelle osseuse n'ont pas été validés.
- Des résultats de test erronés peuvent se produire en raison d'un prélèvement, d'une manipulation ou d'une conservation incorrecte de l'échantillon ou d'une confusion entre les échantillons. Il est nécessaire de bien respecter la notice d'utilisation pour éviter des résultats erronés.
- Des mutations ou des polymorphismes dans les régions de liaison d'amorce ou de sonde peuvent affecter la détection de variants nouveaux ou inconnus, produisant un résultat faux négatif.
- Des numérations de globules blancs excessivement élevées risquent d'entraîner une augmentation de la pression dans la cartouche et de mener à des séries interrompues ou à des résultats inexacts.
- Certains échantillons avec de très faibles taux de transcrits ABL ou avec des globules blancs inférieurs à 150 000 cellules/ml peuvent être rapportés comme **NON VALIDE (INVALID)** (Type 1). Un résultat non déterminé n'exclut pas la présence de très faibles taux de cellules leucémiques dans l'échantillon.

18 Guide de dépannage

Tableau 3. Guide de dépannage

Résultat de test	Causes possibles	Suggestions
NON VALIDE (INVALID)	Type 1 : Échec du contrôle endogène ABL : <ul style="list-style-type: none"> Échantillon de mauvaise qualité Inhibition de la RT-PCR Si Ct ABL > 20, et/ou le point final < 100 	<ul style="list-style-type: none"> Vérifier la qualité de l'échantillon (par ex., exigence de conservation de l'échantillon dépassée, dont la durée et la température). Répéter le test avec l'échantillon initial (s'il est disponible) ou à partir du lysat conservé et une nouvelle cartouche en respectant la procédure décrite à la Section 19.1, Procédure de répétition du test pour ERREUR (ERROR) ou NON VALIDE (INVALID) (Type 1).
	Type 2 : Le niveau de transcrit de la NPM1 mutante ne peut pas être déterminé, car l'échantillon contient un excédent de transcrits de la NPM1 mutante et/ou ABL (Ct < 6)	Répéter le test avec l'échantillon initial (s'il est disponible) ou à partir du lysat conservé et une nouvelle cartouche en respectant la procédure décrite à la Section 19.2, Procédure de répétition du test pour ERREUR (ERROR) (Code 2008) ou NON VALIDE (INVALID) (Type 2).
ERREUR (ERROR) (Code 2008)	Pression qui dépasse la limite (message d'erreur 2008)	<ul style="list-style-type: none"> Vérifier la qualité de l'échantillon Vérifier la numération de globules blancs largement élevée Répéter le test avec l'échantillon initial (s'il est disponible) ou à partir du lysat conservé et une nouvelle cartouche en respectant la procédure décrite à la Section 19.2, Procédure de répétition du test pour ERREUR (ERROR) (Code 2008) ou NON VALIDE (INVALID) (Type 2).
ERREUR (ERROR) (Code 5006, 5007, 5008 et 5009*) *Cette liste des codes d'ERREUR n'est pas exhaustive.	Échec de vérification des sondes	Répéter le test avec l'échantillon initial (s'il est disponible) ou à partir du lysat conservé et une nouvelle cartouche en respectant la procédure décrite à la Section 19.1, Procédure de répétition du test pour ERREUR (ERROR) ou NON VALIDE (INVALID) (Type 1).
PAS DE RÉSULTAT (NO RESULT)	Échec du recueil des données. Par exemple, l'opérateur a interrompu un test en cours ou une panne de courant s'est produite.	Répéter le test avec l'échantillon initial (s'il est disponible) ou à partir du lysat conservé et une nouvelle cartouche en respectant la procédure décrite à la Section 19.1, Procédure de répétition du test pour ERREUR (ERROR) ou NON VALIDE (INVALID) (Type 1).

19 Répétitions du test

19.1 Procédure de répétition du test pour ERREUR (ERROR) ou NON VALIDE (INVALID) (Type 1)

Retester les échantillons avec des résultats **ERREUR (ERROR)** ou **NON VALIDE (INVALID)** dus au cycle seuil (Ct) ABL excédant le seuil Ct maximum valide (Ct > 20) ou le point final inférieur au seuil défini (< 100). Consulter également le Section 18, Guide dépannage.

1. Si le volume de l'échantillon de sang disponible est suffisant, retester à partir du tube de prélèvement de l'échantillon de sang initial en respectant la procédure à la Section 12.2.

-OU-

Si le volume de l'échantillon de sang disponible est insuffisant, la répétition du test peut être effectuée à partir du lysat conservé à la Section 12.2.1, étape 12.

- a. Si le lysat conservé à la Section 12.2.1, étape 12 est stocké congelé, décongeler à la température ambiante avant utilisation.
 - b. Vérifier que le lysat est bien mélangé en mélangeant l'échantillon avec un agitateur à vortex en continu pendant 10 secondes à vitesse maximale, puis le laisser reposer pendant 3 minutes le temps que les bulles disparaissent.
2. Transférer 1 ml du lysat préparé dans un nouveau tube conique de 50 ml.
 3. Suivre les étapes 13 à 17 dans Section 12.2.1 pour effectuer le lysat final.
 4. Ouvrir la cartouche en soulevant son couvercle et transférer la totalité du contenu d'une (1) ampoule de réactif de lavage dans la chambre de réactif de lavage (avec la petite ouverture). Voir Figure 1.
 5. Pipeter le contenu tout entier de l'échantillon préparé dans la chambre à échantillon (grande ouverture). Voir Figure 1.
 6. Fermer le couvercle de la cartouche. Lancer le test (voir la Section 12.4, Démarrage du test).

19.2 Procédure de répétition du test pour ERREUR (ERROR) (Code 2008) ou NON VALIDE (INVALID) (Type 2)

Retester les échantillons avec des taux de transcrits NPM1 mutante et/ou ABL inférieurs au seuil Ct minimum valide (Ct > 0 et Ct < 6) et/ou lorsque la limite de pression est dépassée. Consulter également le Section 18, Guide dépannage.

1. Au fond d'un nouveau tube conique de 50 ml, ajouter 100 µl de PK (protéinase K).
2. S'assurer que l'échantillon de sang ou le lysat restant retenu de Section 12.2, étape 12 est bien mélangé en retournant le tube 8 fois immédiatement avant de le pipeter.
3. Dans le tube contenant déjà la protéinase K, ajouter 250 µl d'échantillon de sang et 3,75 ml de PBS (pH 7,4, fourni par l'utilisateur), si disponible, ou 60 µl de lysat retenu de la Section 12.2.1, étape 12.
 - a. Si le lysat conservé à la Section 12.2.1, étape 12 est stocké congelé, décongeler à la température ambiante avant utilisation.
 - b. Vérifier que le lysat est bien mélangé en mélangeant l'échantillon avec un agitateur à vortex en continu pendant 10 secondes à vitesse maximale, puis le laisser reposer pendant 3 minutes le temps que les bulles disparaissent.
4. Mélanger l'échantillon à l'aide d'un agitateur à vortex en continu pendant 3 secondes à vitesse maximale.
5. Incuber à température ambiante pendant 1 minute.
6. Pour l'échantillon de sang avec PBS destiné à la répétition du test, suivre les étapes 6 à 17 dans Section 12.2.1, pour effectuer le lysat final. Pour le nouvel échantillon de lysat conservé, suivre les étapes a-g ci-dessous pour obtenir le lysat final.
 - a. Au tube contenant l'échantillon de lysat conservé pour la répétition du test, ajouter 2,5 ml de LY.
 - b. Mélanger l'échantillon à l'aide d'un agitateur à vortex en continu pendant 10 secondes à vitesse maximale.
 - c. Incuber à température ambiante pendant 5 minutes.
 - d. Mélanger l'échantillon à l'aide d'un agitateur à vortex en continu pendant 10 secondes à vitesse maximale.
 - e. Incuber à température ambiante pendant 5 minutes.
 - f. Au même tube, ajouter 2 ml d'éthanol absolu de qualité réactif (fourni par l'utilisateur)
 - g. Mélanger l'échantillon à l'aide d'un agitateur à vortex en continu pendant 10 secondes à vitesse maximale. Mettre de côté.
7. Ouvrir la cartouche en soulevant son couvercle et transférer la totalité du contenu d'une (1) ampoule de réactif de lavage dans la chambre de réactif de lavage (avec la petite ouverture). Voir Figure 1.

8. Pipeter le contenu tout entier de l'échantillon préparé dans la chambre à échantillon (grande ouverture). Voir Figure 1.
9. Fermer le couvercle de la cartouche. Lancer le test (voir la Section 12.4, Démarrage du test).

20 Valeurs attendues

L'intervalle Xpert NPM1 Mutation couvre les principaux points de décision clinique pour le suivi de la LAL. Les valeurs attendues sont exprimées sous forme de rapport en pourcentage entre l'ARNm de la NPM1 mutante et l'ARNm d'ABL et sont comprises entre 0,030 % et 500 %. Les mesures inférieures à cet intervalle sont signalées comme non détectées ou inférieures à la limite de détection (LDD). Les mesures supérieures à cet intervalle sont signalées comme étant au-dessus de la limite de quantification (LDQ). Se reporter à Section 15 pour les détails.

21 Performances cliniques

Une étude observationnelle multicentrique de comparaison de méthodes a été menée sur trois sites aux États-Unis et un site hors des États-Unis. Des échantillons provenant de 40 patients discrets atteints de LMA et présentant une NPM1 mutante, provenant d'un point temporel et couvrant toute la gamme dynamique du test Xpert NPM1 Mutation, ont été inclus dans l'étude. L'âge et le sexe ont été recueillis pour les patients sur lesquels les échantillons ont été prélevés. La répartition par sexe était de 11 hommes (27,5 %) et 29 femmes (72,5 %). Tous les échantillons provenaient de patients âgés de 16 à 81 ans avec une moyenne de 59,7 ans.

Les 40 échantillons ont tous donné des résultats de tests valides. Trente-six des 40 échantillons ont donné des résultats dans les fourchettes quantitatives des deux tests. Quatre échantillons ont été exclus de la régression de Deming, car ils étaient négatifs au test Xpert NPM1 Mutation et/ou au test de comparaison. Un échantillon supplémentaire a été exclu parce qu'il était aberrant. Au total, 35 échantillons ont été inclus dans l'analyse de régression de Deming.

Les performances du test Xpert NPM1 Mutation par rapport au test de comparaison ont été évaluées à l'aide d'une régression de Deming afin de déterminer la pente et l'ordonnée à l'origine. La Figure 12 présente les résultats de l'analyse de régression de Deming avec la pente, l'ordonnée à l'origine et la ligne d'identité des 35 échantillons. Les bornes de l'intervalle de confiance à 95 % sont calculées avec la méthode du jackknife et le coefficient de corrélation de Pearson est affiché.

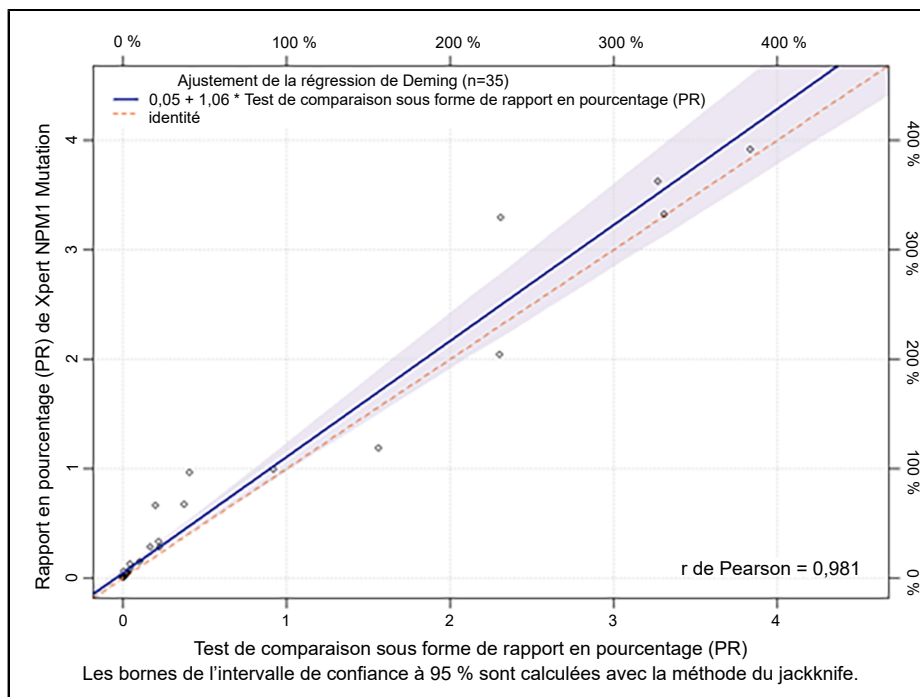


Figure 12. Régression de Deming pour le rapport en pourcentage

La pente et l'ordonnée à l'origine du rapport en pourcentage de l'analyse de régression de Deming étaient respectivement de 1,06 et 0,05, et la corrélation de Pearson était de 0,981 entre les mesures du test Xpert NPM1 Mutation et du test de comparaison.

Une analyse de Bland-Altman de la différence du rapport en pourcentage a été évaluée pour les 35 échantillons dont les résultats quantitatifs se situaient dans la plage linéaire du test Xpert NPM1 Mutation et du test de comparaison. La Figure 13 montre le graphique de Bland-Altman avec la différence sous forme de rapport en pourcentage entre les deux tests par rapport aux résultats moyens sous forme de rapport en pourcentage pour chaque échantillon. Le graphique montre également les deux écarts-typs (2E-T) supérieurs et inférieurs de la différence moyenne observée dans l'étude.

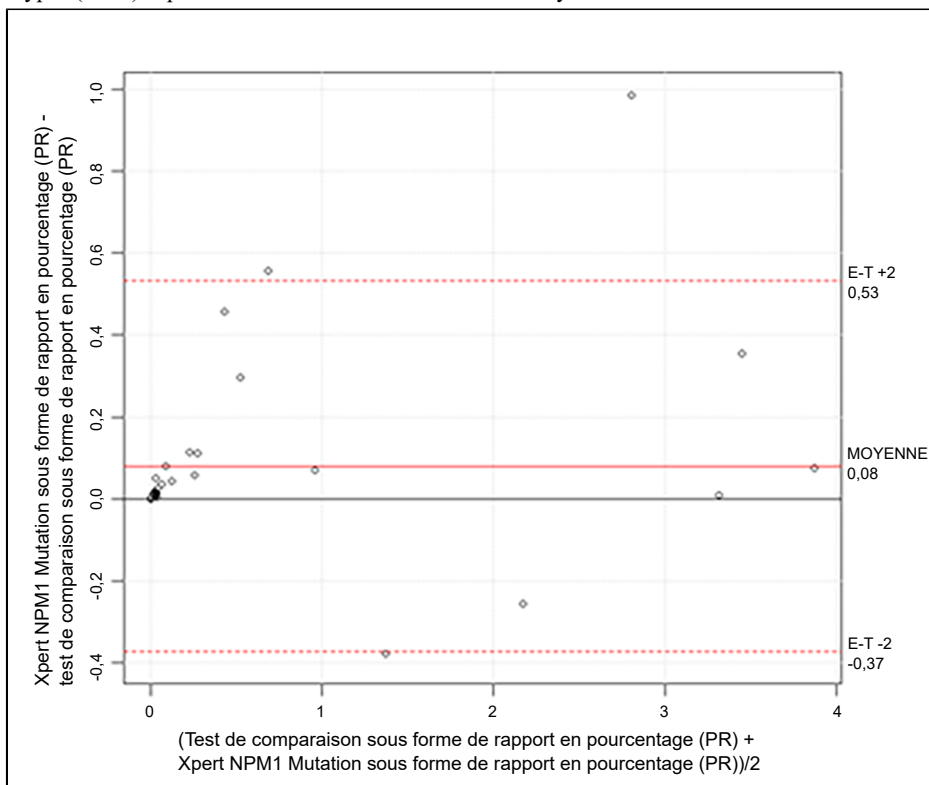


Figure 13. Graphique Bland-Altman pour le test Xpert NPM1 Mutation et le test de comparaison sous forme de rapport en pourcentage

La différence moyenne était de 0,08 sous forme de rapport en pourcentage entre le résultat du test Xpert NPM1 Mutation et du test de comparaison. La majorité (91,4 %, 32/35) des résultats était comprise dans la limite de 2E-T de la différence moyenne.

22 Données analytiques

22.1 Linéarité/plage dynamique

La linéarité a été déterminée pour chacun des trois sous-types de NPM1 mutante, mutA, mutB et mutD, en utilisant des lysats cellulaires qui contiennent des niveaux élevés de chaque transcrite de sous-type. Ces lysats ont été dilués dans un lysat de fond préparé à partir de donneurs présumés négatifs pour la NPM1 mutante, afin d'obtenir des plages ciblées de ~0,01-2500 % de NPM1 mutante/ABL. Tous les niveaux ont été testés sur un lot de réactifs en quadruple exemplaire. Les tests et les analyses statistiques ont été réalisés conformément à la procédure CLSI EP06-A⁹. Les courbes de régression pour chaque sous-type sont présentées dans Figure 14, Figure 15, et Figure 16. La plage linéaire de chaque sous-type et leurs coefficients de modèle linéaire sont résumés dans la Tableau 4.

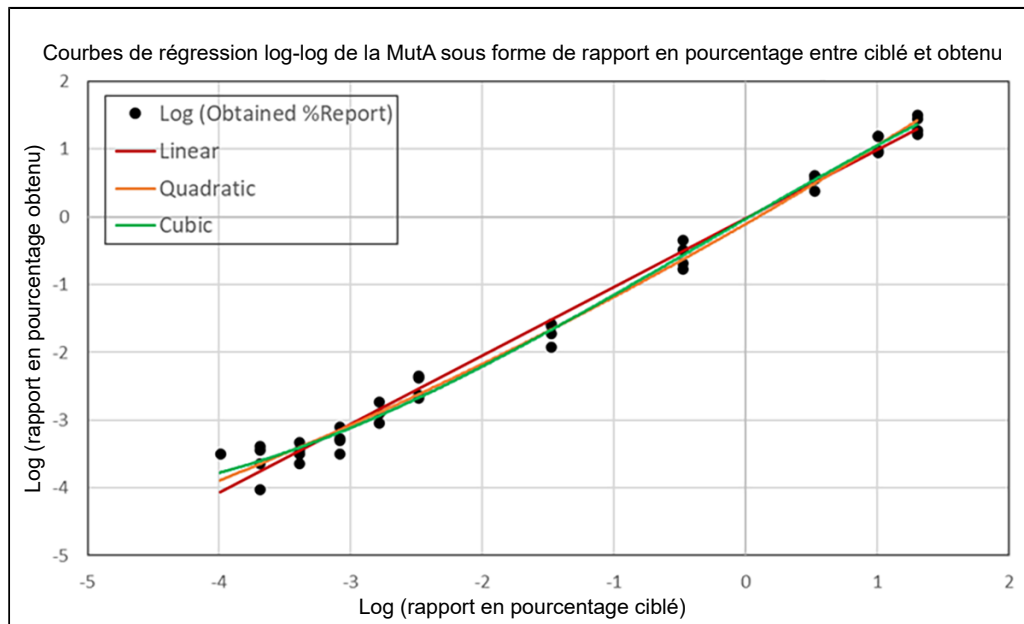


Figure 14. Courbes de régression pour mutA

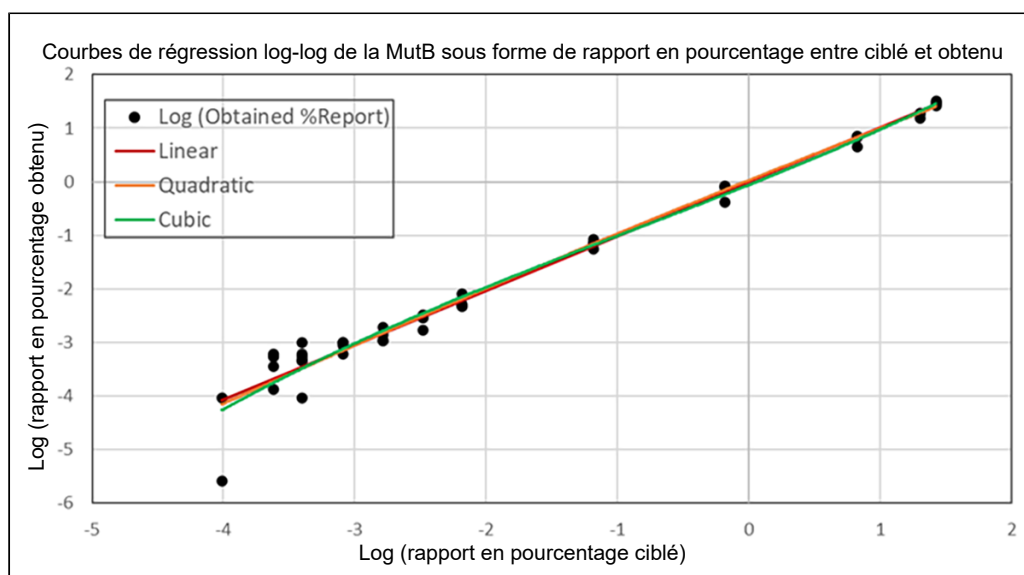


Figure 15. Courbes de régression pour mutB

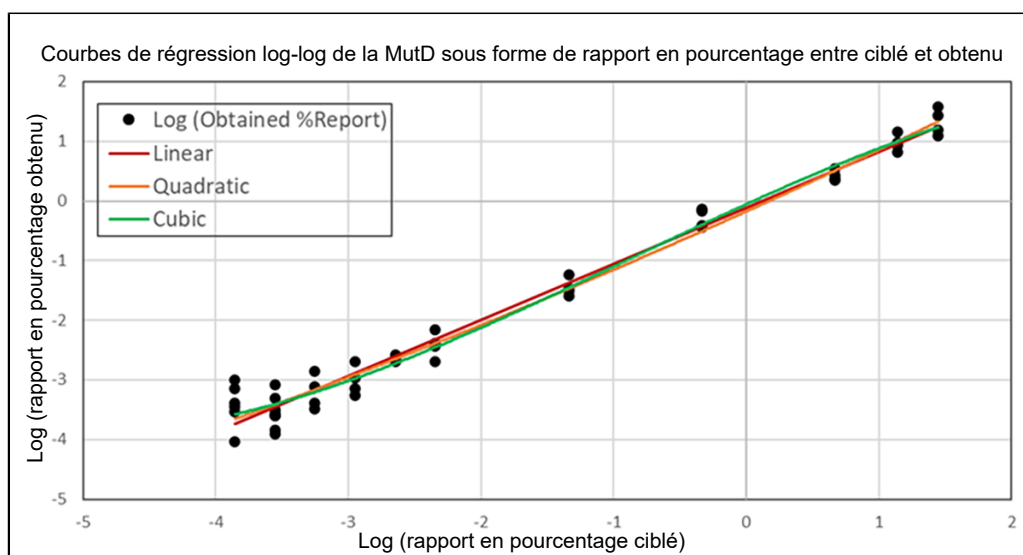


Figure 16. Courbes de régression pour mutD

Tableau 4. Résumé des plages linéaires et des coefficients du modèle linéaire

Sous-type	Plage linéaire	Ordonnée à l'origine	Pente	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

Collectivement, le test Xpert NPM1 Mutation a démontré une linéarité comprise entre 0,014 et 2020 % de NPM1 mutante/ABL. Limitée par la LDQ et la limite supérieure du logiciel, la plage dynamique à signaler est de 0,030 à 500 %.

22.2 Sensibilité analytique (limite de détection, limite de quantification, limite du blanc)

La limite de détection (LDD) est le niveau le plus bas de NPM1 mutante/ABL auquel 95 % des échantillons sont systématiquement signalés comme « **NPM1 Mutation DETECTED [##.##%] (NPM1 MUTANTE DÉTECTÉE [##,## %])** ». La LDD a été déterminée pour les sous-types mutA, mutB et mutD individuellement en testant des dilutions en série de lysats cellulaires positifs pour la NPM1 mutante et de lysats cliniques hébergeant chaque sous-type de mutation. Les LDD correspondantes ont été estimées et vérifiées conformément à la procédure CLSI EP17-A2¹⁰. Les analyses qui en ont résulté ont donné une LDD de 0,025 % pour mutA, 0,023 % pour mutB, et 0,030 % pour mutD (Tableau 5). La LDD la plus élevée parmi les trois sous-types, soit 0,030 %, est considérée comme la LDD de référence globale du test Xpert NPM1 Mutation.

La limite de quantification (LDQ) est le niveau le plus bas de NPM1 mutante/ABL au-dessus duquel les échantillons peuvent être quantifiés avec un écart-type $\leq 0,36$ log de réduction (LR) pour des LR moyens supérieurs à 3,5. Conformément à la procédure CLSI EP17-A2¹⁰, les LDQ ont été estimées et vérifiées à 0,025 % pour le sous-type mutA, 0,023 % pour le sous-type mutB et 0,030 % pour le sous-type mutD (Tableau 5). La LDQ la plus élevée parmi les trois sous-types, soit 0,030 %, est considérée comme la LDQ de référence globale du test Xpert NPM1 Mutation.

La limite du blanc (LDB) est le résultat le plus élevé de NPM1 mutante/ABL attendu parmi 95 % des échantillons à blanc provenant de donneurs présumés négatifs pour la NPM1 mutante. Conformément à la procédure CLSI EP17-A2¹⁰, la LDB du test Xpert NPM1 Mutation a été estimée et vérifiée à 0,0085 % (Tableau 5).

Tableau 5. Limite de détection, limite de quantification et limite du blanc du test Xpert NPM1 Mutation [% de NPM1 mutante/ABL]

Sous-type	LDD [%NPM1 mutante/ABL]	LDQ [%NPM1 mutante/ABL]	LDB [%NPM1 mutante/ABL]
mutA	0,025 %	0,025 %	0,0085 %
mutB	0,023 %	0,023 %	
mutD	0,030 %	0,030 %	

22.3 Spécificité analytique

La spécificité analytique du test Xpert NPM1 Mutation a été déterminée en testant des échantillons de sang périphérique traités à l'EDTA, prélevés sur vingt-cinq donneurs sains.

Aucun résultat **DÉTECTÉ (DETECTED)** de la NPM1 mutante n'a été obtenu à partir de l'un des échantillons présumés négatifs pour la NPM1 mutante évalués dans cette étude. Ainsi, le test Xpert NPM1 Mutation est spécifique aux transcrits d'ARNm de la NPM1 mutante (types A, B et D dans l'exon 12) associés à la LMA et présente une spécificité analytique de 100 % pour les échantillons de sang périphérique EDTA.

22.4 Évaluation de contamination par transfert

Une étude a été menée pour démontrer que les cartouches GeneXpert closes à usage unique empêchent la contamination par transfert à partir de cartouches utilisées à la suite dans le même module de l'instrument. Un échantillon présumé négatif pour la NPM1 mutante a été testé après un échantillon positif pour la NPM1 mutante dans le même module GeneXpert. Cette opération a été répétée 10 fois sur deux modules GeneXpert (22 négatifs et 20 positifs au total). Toutes les séries de l'échantillon positif ont donné le résultat attendu « **NPM1 mutante DÉTECTÉE [#,#%] (NPM1 Mutation DETECTED [#.#%])** », et toutes les séries des échantillons négatifs ont donné le résultat attendu « **NPM1 mutante NON DÉTECTÉE [Transcrit ABL suffisant] (NPM1 Mutation NOT DETECTED [Suffisant ABL transcript])** ».

22.5 Substances potentiellement interférentes

Cette étude a évalué cinq substances susceptibles d'être présentes dans des échantillons de sang périphérique EDTA et pouvant interférer avec les performances du test. Les composants et niveaux testés (voir le Tableau 6) étaient basés sur les directives du document EP07-A2 du CLSI¹¹. Les interférents ont été testés dans des échantillons artificiels de sang périphérique EDTA avec des lysats de cellules positives à la NPM1 mutante en culture, représentant trois niveaux : >1 %, 0,1 à 0,5 % et négatif. Les contrôles de test étaient constitués des mêmes échantillons sans les substances potentiellement interférentes. Chaque niveau a été testé en l'absence et en la présence des cinq interférents individuels à 4 réplicats par condition. Une substance était considérée comme non interférente si, en sa présence, le rapport moyen en pourcentage observé était de 3 fois la différence comparé au contrôle.

Aucun effet inhibiteur cliniquement significatif sur le test Xpert NPM1 Mutation n'a été observé avec l'une des substances interférentes évaluées dans cette étude. Aucune différence statistiquement significative (valeur $p < 0,05$) n'a été observée dans certaines conditions testées, les rapports en pourcentage rapportés pour les conditions de test et de contrôle se situaient dans la plage acceptable des 3 fois.

Tableau 6. Substances potentiellement interférentes testées avec le test Xpert NPM1 Mutation

Substances interférentes	Concentration testée
Bilirubine non conjuguée	20 mg/dl
Cholestérol, Total	500 mg/dl
Triglycérides, Total (lipides)	3 000 mg/dl
Héparine	3 500 U/l
EDTA (prélèvement court)	930 mg/dl

23 Précision et reproductibilité

L'étude a été conçue conformément aux principes généraux énoncés dans la procédure CLSI EP05-A3 pour les études multifactorielles. Elle a été menée sur trois sites. La conception de l'étude prévoyait un échantillon de membres du panel comprenant les mutations A, B et D à deux concentrations. Sept membres du panel ont été testés en double, à raison de deux séries par jour, pendant un total de 6 jours par chacun des deux opérateurs sur trois sites différents (3 sites × 2 opérateurs × 3 lots × 2 jours × 2 passages × 2 réplicats = 144 résultats de test/membre du panel). Les panels de reproductibilité et de précision ont été préparés par Cepheid et sont composés de sept membres, comme indiqué dans le Tableau 7 ci-dessous. Les panels ont été créés dans une matrice simulée de sang périphérique (PB) EDTA.

Tableau 7. Panels de reproductibilité et de précision

Membre du panel	Cible	Niveau de rapport en pourcentage (PR)
1	Négatif (Negative)	S.O.
2	NPM1 Mutation A	Modérément positif (~5 %)
3	NPM1 Mutation A	Positif faible (~0,2 %)
4	NPM1 Mutation B	Modérément positif (~5 %)
5	NPM1 Mutation B	Positif faible (~0,2 %)
6	NPM1 Mutation D	Modérément positif (~5 %)
7	NPM1 Mutation D	Positif faible (~0,2 %)

Le nombre d'échantillons avec des résultats valides pour chaque membre du panel analysé par chacun des deux opérateurs sur trois sites est indiqué dans le Tableau 8.

Tableau 8. Précision et reproductibilité : Nombre d'échantillons avec des résultats valides

Membre du panel	Site 1			Site 2			Site 3			Total des échantillons
	Op 1	Op 2	Site	Op 1	Op 2	Site	Op 1	Op 2	Site	
1 Négatif (Negative)	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 (rapport ~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 (rapport ~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 (rapport ~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 (rapport ~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 (rapport ~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 (rapport ~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 Deux échantillons négatifs présentait des résultats valides mais détectés (FP)

^b Un échantillon négatif présentait un résultat valide mais détecté (FP)

^c Un échantillon LR2.7 : mut D (rapport ~0,2 %) présentait un résultat valide mais non détecté (FN)

Les résultats quantitatifs ont été analysés par une analyse de variance (ANOVA) nichée avec des effets aléatoires et le coefficient de variation (CV). Les résultats des calculs ANOVA pour l'écart-type et la variance pour chaque échantillon positif sont fournis dans le Tableau 9. La variance et le pourcentage de la variance totale apportée par chaque composant (site/instrument, opérateur, lot, jour, série) sont indiqués comme E-T et pourcentage de contribution de chaque composant.

Tableau 9. Résultats du coefficient de variation (CV) : Rapport en pourcentage (PR)

Membre du panel	N	Moyenne	Site		Op		Lot		Jour		Série		Intra-test		Total	
			E-T	CV (%)	E-T	CV (%)	E-T	CV (%)	E-T	CV (%)	E-T	CV (%)	E-T	CV (%)	E-T	CV (%)
LR1.3 : mut A (rapport ~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 (rapport ~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 (rapport ~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 (rapport ~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 (rapport ~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 (rapport ~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 Un échantillon n'a pas été détecté par Xpert NPM1 et a été exclu de l'analyse, car il n'y avait pas de mesure quantitative.

Le coefficient de variation (CV) total sous forme de rapport en pourcentage des valeurs quantitatives pour les échantillons positifs modérés LR1.3 : mut A, mut B et mut D (rapport de ~5 %) varie de 21,74 à 26,23 et pour les échantillons faiblement positifs LR2.7 : mut A, mut B et mut D (rapport de ~0,2 %) varie de 20,68 à 79,22.

24 Bibliographie

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>. Accédé le 16 septembre 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 (consulter l'édition la plus récente). <http://www.cdc.gov/biosafety/publications/>
7. Clinical and Laboratory Standards Institute. Protection of Laboratory Workers from Occupationally Acquired Infections; Approved Guideline. Document M29 (consulter l'édition la plus récente).
8. Health-care Waste. Organisation mondiale de la santé. <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 Emplacements des sièges de Cepheid

Siège social

Cepheid
904 Caribbean Drive
Sunnyvale, CA 94089
USA

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

Siège européen

Cepheid Europe SAS
Vira Solelh
81470 Maurens-Scopont
France

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

26 Assistance technique

Avant de contacter le support technique de Cepheid, recueillir les informations suivantes :

- Nom du produit
- Numéro de lot
- Numéro de série de l'instrument
- Messages d'erreur (le cas échéant)
- Version logicielle et, le cas échéant, le « Service Tag » (numéro d'étiquette de service de l'ordinateur)

États-Unis





















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

France

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

Les coordonnées de tous les bureaux du service du support technique de Cepheid sont disponibles sur notre site Internet à l'adresse suivante : www.cepheid.com/en_US/support/contact-us.

27 Tableau des symboles

Symbole	Signification
	Numéro de référence
	Marquage CE – Conformité européenne
	Dispositif médical de diagnostic <i>in vitro</i>
	Numéro de lot
	Ne pas réutiliser
	Consulter la notice d'utilisation
	Fabricant
	Pays de fabrication
	Quantité suffisante pour n tests
	Contrôle
	Date de péremption
	Limites de température
	Risques biologiques
	Mise en garde
	Liquides inflammables
	Toxicité reproductive et des organes
	Attention
	Mandataire agréé pour la Communauté européenne
	Mandataire en Suisse
	Importateur



Cepheid
904 Caribbean Drive
Sunnyvale, CA 94089
États-Unis
Téléphone : + 1 408 541 4191
Fax : + 1 408 541 4192



Cepheid Europe SAS
Vira Solelh
81470 Maurens-Scopont
France
Téléphone : + 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 Historique des révisions

Section	Description des modifications
23	Précision et reproductibilité