

Xpert[®] NPM1 Mutation

REF GXNPM1-CE-10

Petunjuk Penggunaan

IVD CE

Pernyataan Merek Dagang, Paten, dan Hak Cipta

Trademark, Patents, and Copyright Statements

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

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

© 2022–2023 Cepheid.

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

Cepheid[®], logo Cepheid, GeneXpert[®], dan Xpert[®] adalah merek-merek dagang Cepheid, terdaftar di A.S. dan negara-negara lain.

Semua merek dagang lain merupakan hak milik dari pemiliknya masing-masing.

PEMBELIAN PRODUK INI MEMBERIKAN KEPADA PEMBELI HAK YANG TIDAK DAPAT DIALIHKAN UNTUK MENGGUNAKANNYA SESUAI DENGAN PETUNJUK PENGGUNAAN INI. TIDAK ADA HAK LAIN YANG DIBERIKAN SECARA TEGAS, SECARA TERSIRAT, ATAU DENGAN ESTOPEL. SELANJUTNYA, TIDAK ADA HAK UNTUK MENJUAL KEMBALI YANG DIBERIKAN BERSAMA PEMBELIAN PRODUK INI.

© 2022–2023 Cepheid.

Lihat Bagian 28, Riwayat Revisi untuk mengetahui deskripsi perubahan.

Xpert[®] NPM1 Mutation

Untuk Penggunaan Diagnostik *In Vitro*.

1 Nama Terdaftar

Xpert[®] NPM1 Mutation

2 Nama Umum atau Biasa

Xpert NPM1 Mutation

3 Tujuan yang Dimaksud

3.1 Tujuan Penggunaan

Uji Xpert NPM1 Mutation, yang dilakukan pada GeneXpert[®] Dx System Cepheid, adalah uji diagnostik *in vitro* untuk kuantifikasi transkrip mRNA NPM1 mutan (tipe A, B, dan D pada ekson 12) dalam spesimen darah perifer dari pasien Leukemia Mieloid Akut (AML, Acute Myeloid Leukemia). Uji ini menggunakan reaksi rantai polimerase transkripsi balik (RT-PCR, reverse transcription polymerase chain reaction) waktu nyata otomatis dan melaporkan persen rasio transkrip mRNA NPM1 mutan terhadap transkrip mRNA kontrol endogen ABL1. Uji ini dimaksudkan sebagai alat bantu dalam memantau pasien AML dengan NPM1 yang bermutasi untuk mengetahui kadar transkrip mRNA NPM1 mutan. Uji ini harus digunakan bersama dengan faktor-faktor klinikopatologis lainnya.

Uji Xpert NPM1 Mutation tidak membedakan antara transkrip NPM1 mutan tipe A, B, atau D, dan tidak mendeteksi atau memantau tipe-tipe NPM1 mutan langka lainnya. Uji ini tidak ditujukan untuk diagnosis AML.

3.2 Pengguna/Lingkungan yang Dituju

Uji Xpert NPM1 Mutation ditujukan untuk digunakan oleh pengguna yang terlatih di lingkungan laboratorium.

4 Ringkasan dan Uraian

Leukemia mieloid akut (AML, Acute Myeloid Leukemia) adalah kanker pada sel-sel punca hematopoietik darah mieloid dalam sumsum tulang^{1,2} dan diketahui memiliki berbagai mutasi ekson 12 Nukleofosmin (NPM1)³. Insersi nukleotida pada ekson 12 menyebabkan mutasi pergeseran kerangka (frameshift mutation) dan menciptakan sinyal ekspor nukleus (NES, nuclear export signal). Mutasi gen NPM1 dapat menyebabkan lokalisasi sitoplasmik aberan pada NPM1 dan protein-protein yang berinteraksi dengan NPM1. NPM1 adalah salah satu gen yang paling bermutasi dalam AML dan mutasi terjadi pada 28% hingga 35% dari semua kasus AML. Meskipun beberapa obat yang menargetkan NPM1 yang bermutasi sedang dalam penyelidikan, saat ini belum ada terapi target yang disetujui FDA.⁴

Gen NPM1 mengodekan protein shuttling nukleus (nuclear shuttling protein) yang berperan dalam biologi sentrosom dan ribosom, serta pengaturan sistem selular lain, termasuk jalur supresor tumor. NPM1 adalah fosfoprotein nukleolus yang berperan sebagai shuttle antara nukleus dan sitoplasma. Gen ini mengatur transpor partikel ribosom melalui membran nukleus. NPM1 mutation pertama kali ditemukan pada penderita AML setelah pengamatan lokasi sitoplasma abnormal, dan bukan lokasi nukleus normal. Evaluasi genetik blast leukemia yang digabungkan dengan lokasi NPM1 sitoplasmik telah mengarahkan pada pengetahuan tentang mutasi pergeseran kerangka ekson 12 yang diketahui.³ NPM1 mutation yang

paling sering adalah tipe A (~75-80%), tipe B (~10%), dan tipe D (~5%), semua pada ekson 12, yang menyebabkan mutasi pergeseran kerangka dari insersi empat nukleotida. Mutasi tersebut menyebabkan hilangnya sinyal lokalisasi nukleolus dan lokalisasi sitoplasmik aberan dari protein pada pasien AML.⁵

5 Prinsip Prosedur

Uji Xpert NPM1 Mutation adalah asai otomatis untuk menguantifikasi jumlah transkrip NPM1 mutation sebagai rasio NPM1 Mutation/ABL1. Uji dilakukan pada Cepheid GeneXpert Dx System, yang mengotomatiskan dan memadukan pemurnian sampel, amplifikasi asam nukleat, dan deteksi urutan target dalam sampel sederhana atau kompleks menggunakan RT-PCR waktu-nyata dan asai PCR tersarang. Sistem terdiri atas instrumen, komputer, dan perangkat lunak bawaan untuk menjalankan asai dan melihat hasil. Sistem membutuhkan penggunaan kartrid GeneXpert sekali pakai yang menampung reagensia RT-PCR dan PCR bersarang serta mewadahi proses RT-PCR dan PCR tersarang. Untuk deskripsi lengkap mengenai sistem, harap lihat yang sesuai *GeneXpert Dx System Operator Manual*.

Uji Xpert NPM1 Mutation menyertakan reagensia untuk mendeteksi NPM1 mutation dan transkrip ABL1 sebagai kontrol endogen dalam sampel darah perifer. Jumlah transkrip NPM1 mutation dikuantifikasi sebagai persen rasio NPM1 Mutation/ABL1. Terdapat dua kontrol yang disertakan dalam uji Xpert NPM1 Mutation, yaitu Kontrol Endogen (ABL1) dan Kontrol Pemeriksaan Probe (PCC, Probe Check Control). Kontrol endogen ABL1 menormalisasi target NPM1 mutation dan memastikan bahwa jumlah sampel yang cukup digunakan dalam asai. PCC memverifikasi rehidrasi reagensia, pengisian tabung PCR, dan bahwa semua komponen reaksi, termasuk probe dan pewarna, ada dan fungsional dalam kartrid.

6 Reagensia dan Instrumen

6.1 Bahan yang Disediakan

Kit Xpert NPM1 Mutation (GXNPM1-CE-10) berisi reagensia yang cukup untuk memproses 10 sampel asai atau sampel kendali mutu. Kit berisi hal berikut:

Xpert NPM1 Mutation Reagensia **10 dari tiap-tiapnya per kit**

Proteinase K (PK)	10 x 130 µl per vial
Komponen	Bahan Reagensia
Proteinase K	< 5%

Reagensia Lisis (LY) (Guanidinium Klorida)	10 x 5,3 ml per vial
Komponen	Bahan Reagensia
Guanidinium klorida	25–50%
Urea	25–50%
Natrium dodesil sulfat	< 2%

Reagensia Pencuci	10 x 2,9 ml per ampul
Komponen	Bahan Reagensia
Etanol	< 50%
Guanidinium tiosianat	< 50%

Xpert NPM1 Mutation Kartrid dengan Tabung Reaksi Terpadu		10 per kit
Komponen	Bahan Reagensia	Jumlah
Manik 1 (kering beku)	Enzim: Taq DNA polimerase < 50 U/manik	1 per kartrid
	dNTP < 0,05%	
Manik 2 (kering beku)	Primer dan probe < 0,005%	1 per kartrid
Manik 3 (kering beku)	Primer dan probe < 0,005%	1 per kartrid
Manik 4 (kering beku)	Enzim: Taq DNA polimerase < 50 U/manik	1 per kartrid
	dNTP < 0,05%	
Reagensia Pembilas	Kalium klorida < 4%	2 ml per kartrid
	Natrium azida < 0,1%	
	Polietilena glikol < 40%	
	Tween 20 < 0,2%	
Reagensia Elusi	Basa Trizma < 0,3%	2,5 ml per kartrid
	Trizma hidroklorida < 0,1%	
	Natrium azida < 0,05%	

CD**1 per kit**

- Berkas Definisi Asai (ADF, Assay Definition File)
- Petunjuk untuk mengimpor ADF ke dalam perangkat lunak GeneXpert
- Petunjuk Penggunaan (IFU)

Catatan

Albumin serum sapi (BSA, bovine serum albumin) dalam manik-manik di dalam produk ini diproduksi dan dihasilkan secara eksklusif dari plasma sapi yang berasal dari Amerika Serikat. Tidak ada protein hewan memamah biak atau protein hewan lain yang diberikan dalam pakan hewan tersebut; hewan tersebut lulus dalam pengujian sebelum dan sesudah kematian. Selama pemrosesan, tidak ada pencampuran bahan dengan bahan dari hewan lain.

Catatan

Sertifikat Analisis dan Lembar Data Spesifikasi Lot tersedia melalui Dukungan Teknis Cepheid.

7 Bahan yang Dibutuhkan tetapi Tidak Disediakan

- GeneXpert Dx System (nomor katalog bervariasi berdasarkan konfigurasi): instrumen GeneXpert, komputer, alat pemindai kode batang, dan manual operator.
- Untuk GeneXpert Dx System: perangkat lunak GeneXpert Dx versi 6.2 atau lebih tinggi.
- Printer: Jika dibutuhkan printer, hubungi Dukungan Teknis Cepheid untuk mengatur pembelian printer yang disarankan.
- Pencampur vorteks
- Alat mikrosentrifuga (minimal 1.000 x g)
- Pipet dan ujung pipet dengan filter aerosol
- Tabung kerucut 50 ml
- Etanol absolut derajat reagensia
- 1X PBS, pH 7,4

8 Penyimpanan dan Penanganan

- Simpan isi kit Xpert NPM1 Mutation pada suhu 2–8 °C hingga tanggal kedaluwarsa yang tercantum pada label.
- Jangan membuka penutup kartrid hingga Anda siap melakukan uji.
- Jangan menggunakan kartrid yang sudah melewati tanggal kedaluwarsa.

- Jangan menggunakan kartrid yang telah bocor.
- Reagensia Pencuci adalah cairan yang bening tanpa warna. Jangan menggunakan Reagensia Pencuci jika telah menjadi keruh atau berubah warna.
- Dua puluh (20) menit sebelum memulai prosedur, keluarkan sampel darah, kartrid, dan reagensia penyiapan sampel dari penyimpanan, agar semuanya memiliki suhu ruangan (20 °C hingga 30 °C).

9 Peringatan dan Kewaspadaan

9.1 Umum

- Untuk penggunaan diagnostik *in vitro*.
- Perlakukan semua sampel biologis, termasuk kartrid bekas dan reagensia, sebagai bahan yang mampu menularkan agen penyebab infeksi. Karena sering kali tidak mungkin untuk mengetahui mana di antaranya yang bersifat menular, semua sampel biologis harus diperlakukan dengan langkah pencegahan standar.
- Pedoman untuk penanganan sampel tersedia dari Pusat-pusat Pengendalian dan Pencegahan Penyakit AS (U.S. Centers for Disease Control and Prevention)⁶ dan Institut Standar Klinis dan Laboratorium (Clinical and Laboratory Standards Institute).⁷
- Ikuti prosedur keamanan yang ditetapkan oleh institusi Anda dalam bekerja dengan bahan kimia dan menangani sampel biologis.
- Karakteristik kinerja uji ini telah ditentukan hanya dengan darah yang dikumpulkan dalam tabung EDTA. Fungsi asai belum dievaluasi dengan tipe-tipe sampel lain.
- Hasil yang andal bergantung pada pengumpulan, pemindahan, penyimpanan, dan pemrosesan sampel yang memadai. Hasil asai yang tidak tepat dapat terjadi akibat pengumpulan, penanganan, atau penyimpanan sampel yang tidak semestinya, kesalahan teknis, tertukarnya sampel, atau karena transkrip target dalam sampel berada di bawah batas deteksi asai. Kepatuhan yang saksama terhadap Petunjuk Penggunaan ini dan *GeneXpert Dx System Operator Manual* diperlukan untuk menghindari hasil yang keliru.
- Melakukan uji Xpert NPM1 Mutation di luar rentang suhu dan waktu penyimpanan kit atau sampel yang dianjurkan dapat memberikan hasil yang keliru atau hasil yang tidak valid.
- Sampel biologis, alat transfer, dan kartrid bekas harus dianggap mampu menularkan agen penyebab infeksi, yang membutuhkan langkah pencegahan standar. Ikuti prosedur limbah lingkungan institusi Anda untuk pembuangan dengan benar kartrid bekas dan reagensia tidak terpakai. Berbagai bahan ini dapat menunjukkan karakteristik limbah kimia berbahaya yang membutuhkan prosedur pembuangan spesifik nasional atau regional. Jika peraturan nasional atau regional tidak menyediakan arahan yang jelas mengenai pembuangan yang benar, maka sampel biologis dan kartrid bekas pakai harus dibuang sesuai pedoman penanganan dan pembuangan limbah medis WHO [World Health Organization].⁸

9.2 Spesimen

- Jaga kondisi penyimpanan yang tepat untuk menjamin integritas sampel (lihat Bagian 11, Pengumpulan dan Penyimpanan Spesimen). Kestabilan spesimen di bawah kondisi pengiriman selain dari yang disarankan, belum dievaluasi.
- Jangan membekukan spesimen darah perifer EDTA.
- Pengumpulan, penyimpanan, dan pemindahan spesimen yang baik merupakan hal-hal yang sangat penting untuk memperoleh hasil yang tepat.

9.3 Uji/Reagensia

- Jangan mengganti reagensia Xpert NPM1 Mutation dengan reagensia lain.
- Jangan membuka tutup kartrid Xpert NPM1 Mutation kecuali ketika menambahkan sampel dan Reagensia Pencuci.
- Jangan menggunakan kartrid yang telah terjatuh setelah mengeluarkannya dari kemasan.
- Jangan mengocok kartrid. Mengocok atau menjatuhkan kartrid setelah membuka penutup kartrid dapat memberikan hasil yang tidak valid.
- Jangan memasang label ID Sampel pada penutup kartrid atau pada label kode batang dari kartrid.
- Jangan menggunakan kartrid dengan label kode batang yang rusak.
- Jangan menggunakan kartrid yang mempunyai tabung reaksi yang rusak.

- Disarankan bahwa kartrid Xpert NPM1 Mutation berada pada suhu ruangan (20 °C hingga 30 °C) ketika digunakan untuk pengujian.
- Setiap kartrid Xpert NPM1 Mutation sekali pakai digunakan untuk memproses satu asai. Jangan memakai ulang kartrid yang sudah diproses.
- Pindahkan seluruh isi dari satu (1) ampul Reagensia Pencuci ke Ruang Reagensia Pencuci. Tidak menambahkan Reagensia Pencuci dapat menyebabkan hasil **TIDAK TERDETEKSI (NOT DETECTED)** palsu.
- Jangan memakai ulang ujung pipet.
- Jangan menggunakan kartrid jika tampak basah atau jika segel penutup tampak sudah rusak.
- Jangan menggunakan kartrid Xpert NPM1 Mutation jika suatu reagensia ditambahkan ke bukaan yang salah.
- Jangan membuka kartrid Xpert NPM1 Mutation setelah asai selesai.
- Dedikasikan serangkaian pipet dan reagensia khusus untuk penyiapan sampel.
- Kenakan sarung tangan dan jas laboratorium yang bersih. Ganti sarung tangan di antara penanganan setiap sampel.
- Ketika terjadi tumpahan sampel atau kontrol, kenakan sarung tangan dan serap tumpahan menggunakan handuk kertas. Kemudian bersihkan area yang terkontaminasi secara menyeluruh menggunakan pengenceran bahan pemutih klorin rumah tangga dengan perbandingan 1:10 yang disiapkan segar. Konsentrasi klorin aktif akhir harus sebesar 0,5%, dengan tidak memandang konsentrasi bahan pemutih rumah tangga di negara Anda. Berikan waktu kontak minimal dua menit.
- Pastikan bahwa area kerja kering sebelum menggunakan etanol denaturasi 70% untuk menghilangkan residu bahan pemutih. Biarkan permukaan kering sepenuhnya sebelum melanjutkan. Atau, ikuti prosedur standar institusi Anda dalam peristiwa kontaminasi atau tumpahan. Untuk peralatan, ikuti saran produsen untuk dekontaminasi.

10 Bahaya Kimia

Catatan Informasi di bawah ini berlaku bagi seluruh produk yang mengandung Proteinase K, Reagensia Lisis, Reagensia Pencuci, dan Reagensia Pembilas.

- Piktogram Bahaya CLP/GHS: 
- Kata Sinyal: BAHAYA
- **Pernyataan Bahaya GHS PBB**
 - Cairan dan uap yang sangat mudah menyala H225.
 - Menyebabkan iritasi kulit H315.
 - Menyebabkan iritasi mata serius H319.
 - Dapat menyebabkan kantuk atau rasa pusing H336.
 - Diduga menyebabkan cacat genetik H341.
- **Pernyataan Pencegahan GHS PBB**
 - **Pencegahan**
 - Lihat Lembar Data Keselamatan untuk mengetahui petunjuk khusus sebelum penggunaan.
 - Dapatkan petunjuk khusus sebelum menggunakan.
 - Jangan menanganinya sampai semua tindakan pencegahan keamanan sudah dibaca dan dipahami.
 - Jauhkan dari panas, bunga api, nyala api, dan/atau permukaan panas. Tidak boleh merokok.
 - Jaga agar wadah tertutup rapat.
 - Jangan menghirup kabut, uap, atau semprotan.
 - Cuci dengan saksama setelah penanganan.
 - Gunakan hanya di luar ruangan dan di area yang berventilasi baik.
 - Kenakan sarung tangan pelindung/pakaian pelindung/pelindung mata/pelindung wajah.
 - Gunakan alat pelindung diri yang diperlukan.
 - **Respons**
 - Jika terjadi **KEBAKARAN**: Gunakan media yang sesuai untuk memadamkan.
 - **JIKA TERHIRUP**: Pindahkan korban ke udara segar dan biarkan dalam posisi istirahat yang nyaman untuk bernapas.
 - Hubungi **SENTRA INFORMASI KERACUNAN** atau dokter jika Anda merasa kurang sehat.
 - **JIKA TERKENA KULIT** (atau rambut): Segera lepas/buka semua pakaian yang terkontaminasi. Bilas kulit dengan air/pancuran.
 - Penanganan spesifik, lihat informasi pertolongan pertama tambahan.
 - Lepaskan pakaian yang terkontaminasi dan cuci sebelum digunakan kembali.

- Jika terjadi iritasi kulit: Dapatkan saran/bantuan medis.
- JIKA TERKENA MATA: Bilas dengan hati-hati menggunakan air selama beberapa menit. Lepaskan lensa kontak, jika ada dan mudah dilakukan. Lanjutkan membilas.
- Jika iritasi mata berlanjut: Dapatkan saran/bantuan medis.
- Jika terpapar atau khawatir: Dapatkan saran/bantuan medis.
- **Penyimpanan/Pembuangan**
 - Jaga agar tetap sejuk.
 - Simpan di tempat yang berventilasi baik.
 - Jaga agar wadah tertutup rapat.
 - Simpan di tempat terkunci.
 - Buang isi dan/atau wadah sesuai dengan peraturan setempat, regional, nasional, dan/atau internasional.

11 Pengumpulan dan Penyimpanan Spesimen

- Spesimen darah perifer harus dikumpulkan dalam tabung EDTA sesuai dengan pedoman institusi Anda. Plasma tidak boleh dipisahkan dari sel.
- Spesimen harus disimpan pada suhu 2–8 °C selama tidak lebih dari 3 hari (72 jam) sebelum pengujian.
- Pengumpulan dan penyimpanan spesimen yang baik merupakan hal yang sangat penting bagi fungsi asai ini. Kestabilan spesimen dalam kondisi penyimpanan selain dari yang dicantumkan pada Bagian 12, Prosedur di bawah belum dievaluasi dengan uji Xpert NPM1 Mutation.

12 Prosedur

12.1 Sebelum Anda Mulai

Dua puluh (20) menit sebelum memulai prosedur, keluarkan sampel darah, reagensia penyiapan sampel, dan kartrid dari penyimpanan di lemari pendingin agar semuanya memiliki suhu ruangan. Putar sebentar Proteinase K (PK) dalam mikrosentrifuga.

Penting Mulai asai dalam waktu 1 jam setelah penambahan sampel yang telah diberi perlakuan dengan Reagensia Sampel ke kartrid.

Penting Keluarkan kartrid dari kemasan karton sebelum menyiapkan sampel. (Lihat Bagian 12.3, Menyiapkan Kartrid).

12.2 Menyiapkan Sampel

12.2.1 Menyiapkan Sampel dengan Hitungan Sel Darah Putih (WBC, White Blood Cell) yang Tidak Diketahui atau Sampel dengan Kurang dari 30 juta WBC/ml

1. Ke bagian dasar tabung kerucut 50 ml baru yang diberi label, tambahkan 100 µl Proteinase K (PK).
2. Pastikan bahwa sampel darah tercampur dengan baik dengan cara membalik tabung pengumpulan darah sebanyak 8 kali segera sebelum melakukan pemipetan. Lihat petunjuk produsen untuk tabung pengumpulan darah EDTA.
3. Ke tabung yang telah berisi PK, tambahkan 4 ml sampel darah.
4. Campur sampel menggunakan mikser vorteks dengan pengaturan maksimum secara terus-menerus, selama 3 detik.
5. Inkubasikan spesimen selama 1 menit pada suhu ruangan.
6. Ke dalam tabung yang sama, tambahkan 2,5 ml Reagensia Lisis (LY).

Catatan Simpan reagensia lisis yang tersisa untuk digunakan kembali dalam Langkah 13.

7. Campur sampel menggunakan mikser vorteks dengan pengaturan maksimum secara terus-menerus, selama 10 detik.
8. Inkubasikan selama 5 menit pada suhu ruangan.
9. Campur sampel menggunakan mikser vorteks dengan pengaturan maksimum secara terus-menerus, selama 10 detik.
10. Inkubasikan selama 5 menit pada suhu ruangan.
11. Campur sampel dengan mengetuk bagian dasar tabung sebanyak 10 kali.

12. Pindahkan 1 ml lisat yang telah disiapkan ke dalam tabung kerucut 50 ml baru yang diberi label.

Catatan

Lisat yang tersisa dapat disimpan pada suhu 2–8 °C hingga 48 jam, atau disimpan pada suhu -20 °C atau lebih rendah hingga 1 bulan.

13. Ke dalam tabung kerucut baru yang berisi lisat, tambahkan 1,5 ml LY yang disimpan dari Langkah 6.
14. Campur sampel menggunakan mikser vorteks dengan pengaturan maksimum secara terus-menerus, selama 10 detik.
15. Inkubasikan selama 10 menit pada suhu ruangan.
16. Ke tabung kerucut yang sama, tambahkan 2 ml etanol absolut derajat reagensia (disediakan oleh pengguna).
17. Campur sampel menggunakan mikser vorteks dengan pengaturan maksimum secara terus-menerus, selama 10 detik. Sisihkan.
18. Buang semua sisa reagensia PK atau LY.

12.2.2 Menyiapkan Sampel dengan Hitungan WBC Sama dengan atau Lebih Besar dari 30 juta WBC/ml

1. Ke bagian dasar tabung kerucut 50 ml baru, tambahkan 100 µl PK.
2. Pastikan bahwa sampel darah tercampur dengan baik dengan cara membalik tabung pengumpulan darah sebanyak 8 kali segera sebelum melakukan pipet. Lihat petunjuk produsen untuk tabung pengumpulan darah EDTA.
3. Ke tabung yang telah berisi PK, tambahkan 250 µl sampel darah dan 3,75 ml 1xPBS (pH 7,4, disediakan oleh pengguna).
4. Campur sampel menggunakan mikser vorteks dengan pengaturan maksimum secara terus-menerus, selama 3 detik.
5. Inkubasikan spesimen selama 1 menit pada suhu ruangan.
6. Ikuti Langkah 6-17 pada Bagian 12.2.1 untuk membuat lisat akhir.
7. Buang semua sisa reagensia PK atau LY.

12.3 Menyiapkan Kartrid

Untuk menambahkan sampel ke kartrid Xpert NPM1 Mutation:

1. Keluarkan kartrid dari kemasan karton.
2. Periksa keberadaan kerusakan pada kartrid. Jika rusak, jangan digunakan.
3. Buka kartrid dengan mengangkat tutup kartrid dan pindahkan seluruh isi dari satu (1) ampul Reagensia Pencuci ke Ruang Reagensia Pencuci (dengan bukaan kecil). Lihat Gambar 1.
4. Pipetkan seluruh isi dari sampel yang disiapkan (4,5 ml) ke dalam Ruang Sampel (bukaan besar). Lihat Gambar 1.



Gambar 1. Kartrid Xpert NPM1 Mutation (Tampak Atas)

5. Tutuplah penutup kartrid. Pastikan bahwa penutup terpasang erat di tempatnya. Inisiasi asai (lihat Bagian 12.4, Memulai Asai).

12.4 Memulai Asai**Penting**

Sebelum memulai asai, pastikan bahwa sistem menjalankan perangkat lunak GeneXpert Dx versi 6.2 atau lebih tinggi dan bahwa Berkas Definisi Asai yang benar telah diimpor ke dalam perangkat lunak. Bagian ini mencantumkan langkah-langkah default untuk mengoperasikan GeneXpert Dx System.

Catatan

Langkah-langkah yang Anda ikuti dapat berbeda jika administrator sistem sudah mengubah alur kerja default sistem.

1. Hidupkan sistem GeneXpert dengan mula-mula menyalakan instrumen GeneXpert Dx lalu menyalakan komputer. Perangkat lunak GeneXpert Dx akan berjalan secara otomatis atau mungkin memerlukan klik ganda pada ikon pintasan perangkat lunak GeneXpert Dx pada desktop Windows®.
2. Masuk ke perangkat lunak GeneXpert menggunakan nama pengguna dan kata sandi Anda.
3. Dalam jendela **Sistem GeneXpert (GeneXpert System)**, klik **Buat Uji (Create Test)** (GeneXpert Dx). Jendela **Buat Uji (Create Test)** terbuka.
4. Pindai atau ketikkan ID Pasien (Patient ID). Jika mengetik ID Pasien (Patient ID), pastikan bahwa ID Pasien (Patient ID) diketik dengan benar. ID Pasien (Patient ID) berkaitan dengan hasil uji dan ditampilkan di jendela **Lihat Hasil (View Results)** dan semua laporan. Kotak dialog **Pindai Kode Batang ID Sampel (Scan Sample ID Barcode)** terbuka.
5. Pindai atau ketikkan ID Sampel (Sample ID). Jika mengetikkan ID Sampel (Sample ID), pastikan bahwa ID Sampel (Sample ID) diketik dengan benar. ID Sampel (Sample ID) ditampilkan di sisi kiri jendela **Lihat Hasil (View Results)** dan semua laporan. Kotak dialog **Pindai Kode Batang Kartrid (Scan Cartridge Barcode)** terbuka.
6. Pindai kode batang pada kartrid Xpert NPM1 Mutation. Dengan menggunakan informasi kode batang, perangkat lunak mengisi secara otomatis kotak untuk bidang berikut: ID Lot Reagensia (Reagent Lot ID), NS Kartrid (Cartridge SN), dan Tanggal Kedaluwarsa (Expiration Date).

Catatan

Jika kode batang pada kartrid Xpert NPM1 Mutation tidak dapat terpindai, maka ulangi asai dengan kartrid baru. Jika Anda telah memindai kode batang kartrid pada perangkat lunak dan Berkas Definisi Asai tidak tersedia, maka akan muncul layar yang menunjukkan bahwa Berkas Definisi Asai tidak termuat pada sistem. Jika layar ini muncul, hubungi Dukungan Teknis Cepheid.

7. Klik **Mulai Uji (Start Test)**. Ketikkan kata sandi Anda dalam kotak dialog yang muncul.
8. Buka pintu modul instrumen dengan lampu hijau berkedip dan muat kartrid.
9. Tutup pintu. Uji dimulai dan lampu hijau berhenti berkedip. Saat asai selesai, lampu padam.
10. Tunggu hingga sistem melepas kunci pintu sebelum membuka pintu modul dan mengeluarkan kartrid.
11. Buang kartrid bekas dalam wadah limbah sampel yang sesuai menurut praktik standar institusi Anda.

Catatan

Waktu hingga memperoleh hasil adalah kurang dari 3 jam (kira-kira 30 menit persiapan sampel di luar peralatan dan waktu proses asai kurang dari 2,5 jam).

13 Melihat dan Mencetak Hasil

Bagian ini mencantumkan langkah dasar untuk melihat dan mencetak hasil. Untuk memperoleh petunjuk yang lebih terperinci mengenai cara menampilkan dan mencetak hasil, lihat *GeneXpert Dx System Operator Manual*.

- Klik pada ikon **Lihat Hasil (View Results)** untuk melihat hasil.
- Setelah asai selesai, klik tombol **Laporan (Report)** pada layar **Lihat Hasil (View Results)** untuk melihat dan/atau membuat file laporan PDF.

14 Kendali Mutu

Setiap kartrid menyertakan Kontrol Endogen ABL1 dan Kontrol Pemeriksaan Probe (PCC, Probe Check Control).

Kontrol Endogen ABL1 — Kontrol Endogen ABL1 memverifikasi bahwa jumlah sampel yang cukup digunakan dalam asai. Kontrol ini juga mendeteksi penghambatan terkait sampel dari asai PCR waktu nyata. ABL1 lulus jika memenuhi kriteria penerimaan yang ditetapkan.

Kontrol Pemeriksaan Probe (PCC, Probe Check Control) – Sebelum memulai reaksi PCR, sistem GeneXpert mengukur sinyal fluoresensi dari probe untuk memantau rehidrasi manik, pengisian tabung reaksi, dan bahwa semua komponen reaksi berfungsi dalam kartrid. PCC lulus jika memenuhi kriteria penerimaan yang ditetapkan.

15 Interpretasi Hasil

Hasil diinterpretasikan secara otomatis oleh sistem GeneXpert dari sinyal fluoresen yang terukur dan algoritme perhitungan yang tertanam, serta ditampilkan dalam jendela Lihat Hasil (View Results). Kemungkinan hasil dan interpretasinya diperlihatkan dalam Tabel 1.

Tabel 1. Hasil Uji Xpert NPM1 Mutation dan Interpretasi

Hasil	Interpretasi
<p>NPM1 Mutation TERDETEKSI (NPM1 Mutation DETECTED)</p> <p>Lihat Gambar 2, Gambar 3, Gambar 4</p>	<p>Transkrip NPM1 mutation terdeteksi.</p> <ul style="list-style-type: none"> NPM1 Mutation TERDETEKSI (NPM1 Mutation DETECTED) – Transkrip NPM1 mutation terdeteksi dan memiliki ambang batas siklus (Ct, cycle threshold) di dalam rentang valid dan titik akhir di atas pengaturan ambang batas. Kemungkinan hasil yang terdeteksi: <ul style="list-style-type: none"> NPM1 MUTATION TERDETEKSI [#.###%] (NPM1 MUTATION DETECTED [#.###%]); Gambar 2. NPM1 MUTATION TERDETEKSI [Di atas LoQ atas] (NPM1 MUTATION DETECTED [Above upper LoQ]); Gambar 3. NPM1 MUTATION TERDETEKSI [Di bawah LoD; <#.###%] (NPM1 MUTATION DETECTED [Below LoD; <#.###%]); Gambar 4. ABL LULUS (PASS) – Transkrip ABL terdeteksi dan mempunyai ambang batas siklus (Ct) di dalam rentang valid dan titik akhir di atas pengaturan ambang batas. Pemeriksaan Probe LULUS (PASS) – semua hasil pemeriksaan probe lolos.
<p>NPM1 Mutation TIDAK TERDETEKSI (NPM1 Mutation NOT DETECTED)</p> <p>Lihat Gambar 5</p>	<p>Transkrip NPM1 mutation tidak terdeteksi.</p> <ul style="list-style-type: none"> NPM1 Mutation TIDAK TERDETEKSI [Transkrip ABL mencukupi] (NPM1 Mutation NOT DETECTED [Sufficient ABL transcript]) – Transkrip NPM1 mutation tidak terdeteksi dan memiliki ambang batas siklus (Ct) nol atau di atas batas atas rentang valid dan/atau titik akhir di bawah pengaturan ambang batas. ABL LULUS (PASS) – Transkrip ABL terdeteksi dan mempunyai ambang batas siklus (Ct) di dalam rentang valid dan titik akhir di atas pengaturan ambang batas. Pemeriksaan Probe LULUS (PASS) – semua hasil pemeriksaan probe lolos.
<p>TIDAK VALID (INVALID)</p> <p>Lihat Gambar 6, Gambar 7, Gambar 8, Gambar 9, Gambar 10</p>	<p>Kadar transkrip NPM1 Mutation tidak dapat ditentukan karena sampel mengandung transkrip NPM1 mutation berlebih dan/atau transkrip ABL berlebih atau tidak mencukupi. Lihat Bagian 18, Panduan Pemecahan Masalah, untuk petunjuk tambahan tentang pengujian ulang sampel.</p> <ul style="list-style-type: none"> NPM1 Mutation TIDAK VALID (NPM1 Mutation INVALID) – Ambang batas siklus (Ct) NPM1 di atas nol dan di bawah batas bawah rentang valid (Gambar 8, Gambar 9) ABL GAGAL (FAIL) – Ambang batas siklus (Ct) ABL tidak berada dalam rentang valid atau titik akhir berada di bawah pengaturan ambang batas (Gambar 6, Gambar 7, Gambar 8, Gambar 10) Pemeriksaan Probe – LULUS (PASS); semua hasil pemeriksaan probe lulus.
<p>KESALAHAN (ERROR)</p> <p>Lihat Gambar 11</p>	<p>Kadar transkrip NPM1 Mutation tidak dapat ditentukan. Lihat Bagian 18, Panduan Pemecahan Masalah, untuk petunjuk tambahan tentang pengujian ulang sampel.</p> <ul style="list-style-type: none"> NPM1 Mutation TIDAK ADA HASIL (NO RESULT) ABL TIDAK ADA HASIL (NO RESULT) Pemeriksaan Probe GAGAL (FAIL) – Semua atau salah satu dari hasil pemeriksaan probe gagal. Pemeriksaan Probe LULUS (PASS) atau TB (NA) (tidak berlaku) dan Penghentian Tekanan (Pressure Abort)*. <p>*Jika pemeriksaan probe lulus, kesalahan disebabkan oleh batas tekanan maksimum yang melampaui rentang yang dapat diterima atau karena kegagalan komponen sistem.</p>
<p>TIDAK ADA HASIL (NO RESULT)</p>	<p>Kadar transkrip NPM1 Mutation tidak dapat ditentukan. Data yang dikumpulkan tidak mencukupi untuk memberikan hasil asai. Misalnya, ini dapat terjadi jika operator menghentikan asai yang sedang berlangsung. Lihat Bagian 18, Panduan Pemecahan Masalah, untuk mengetahui petunjuk tambahan tentang pengujian ulang sampel.</p> <ul style="list-style-type: none"> NPM1 Mutation TIDAK ADA HASIL (NO RESULT) ABL TIDAK ADA HASIL (NO RESULT) Pemeriksaan Probe TB (NA) (tidak berlaku)

16 Hasil Kuantitatif

Keluaran kuantitatif Xpert NPM1 Mutation disajikan berupa persen rasio NPM1 Mutation/ABL1. Kit-kit diberi nilai Efisiensi ($E_{\Delta Ct}$) spesifik lot dan Faktor Penskalaan (SF) yang menghubungkan kuantitasi transkrip NPM1 Mutation (A, B, dan D) dan transkrip ABL1 dengan jumlah salinan standar primer sintetik RNA tertranskripsi *in vitro* (IVT-RNA, *in vitro* transcribed RNA) NPM1 mutation dan ABL1.

Tabel 2. Contoh Xpert NPM1 Mutation Hasil Uji

Asai	Mutan NPM1		ABL		Xpert NPM1 Mutation Hasil Uji	Catatan
	Ct	Hasil ^a	Ct	Hasil ^a		
1	5,2	TIDAK VALID (INVALID)	5,8	GAGAL (FAIL)	TIDAK VALID [Transkrip NPM1 Mutation dan ABL terlalu tinggi] (INVALID [Too high NPM1 Mutation and ABL transcripts])	TB (NA)
2	9	TIDAK VALID (INVALID)	5,5	GAGAL (FAIL)	TIDAK VALID [Transkrip ABL terlalu tinggi] (INVALID [Too high ABL transcripts])	TB (NA)
3	5,5	TIDAK VALID (INVALID)	8,5	LULUS (PASS)	TIDAK VALID [Transkrip NPM1 Mutation terlalu tinggi] (INVALID [Too high NPM1 Mutation transcripts])	TB (NA)
4	25,0	TIDAK VALID (INVALID)	21,8	GAGAL (FAIL)	TIDAK VALID [Transkrip ABL tidak mencukupi] (INVALID [Insufficient ABL transcript])	TB (NA)
5	0	TIDAK VALID (INVALID)	0	GAGAL (FAIL)	TIDAK VALID [Tidak ada transkrip ABL] (INVALID [No ABL transcript])	TB (NA)
6	8,5	POS	13,6	LULUS (PASS)	NPM1 Mutation TERDETEKSI [Di atas LoQ atas] (NPM1 Mutation DETECTED [Above upper LoQ])	TB (NA)
7	22,5	POS	14,8	LULUS (PASS)	NPM1 Mutation TERDETEKSI [1,05%] (NPM1 Mutation DETECTED [1.05%])	Nilai yang dilaporkan: 1,05%
8	27,9	POS	14,0	LULUS (PASS)	NPM1 Mutation TERDETEKSI [Di bawah LoD; <0,030%] (NPM1 Mutation DETECTED [Below LoD; <0.030%])	TB (NA)
9	0	NEG	14,6	LULUS (PASS)	NEGATIF [Transkrip ABL mencukupi] (NEGATIVE [Sufficient ABL transcript])	TB (NA)
10	0	TIDAK ADA HASIL (NO RESULT)	0	TIDAK ADA HASIL (NO RESULT)	KESALAHAN (ERROR)	Sebagai contoh, Error 5017 [ABL] pemeriksaan probe gagal ([ABL] probe check failed)

^a Lihat tab Hasil Analit (Analyte Results) dalam Perangkat lunak Sistem GeneXpert Dx untuk mengetahui informasi terperinci.

16.1 NPM1 Mutation TERDETEKSI [#.,##]% (NPM1 Mutation DETECTED [#.,##]%)

NPM1 mutation telah terdeteksi pada kadar #.,##%.

Untuk hasil “**NPM1 Mutation TERDETEKSI [#.,##%] (NPM1 Mutation DETECTED [#.,##%])**”, NPM1 mutation dapat dideteksi dengan Ct NPM1 Mutation lebih besar dari atau sama dengan “6” dan lebih kecil dari atau sama dengan “32”, serta Ct ABL lebih besar dari atau sama dengan “6” dan lebih kecil dari atau sama dengan “20”. Perangkat lunak GeneXpert menghitung % menggunakan persamaan berikut, dengan nilai Delta Ct (ΔCt) diperoleh dari Ct ABL dikurangi Ct NPM1 Mutation:

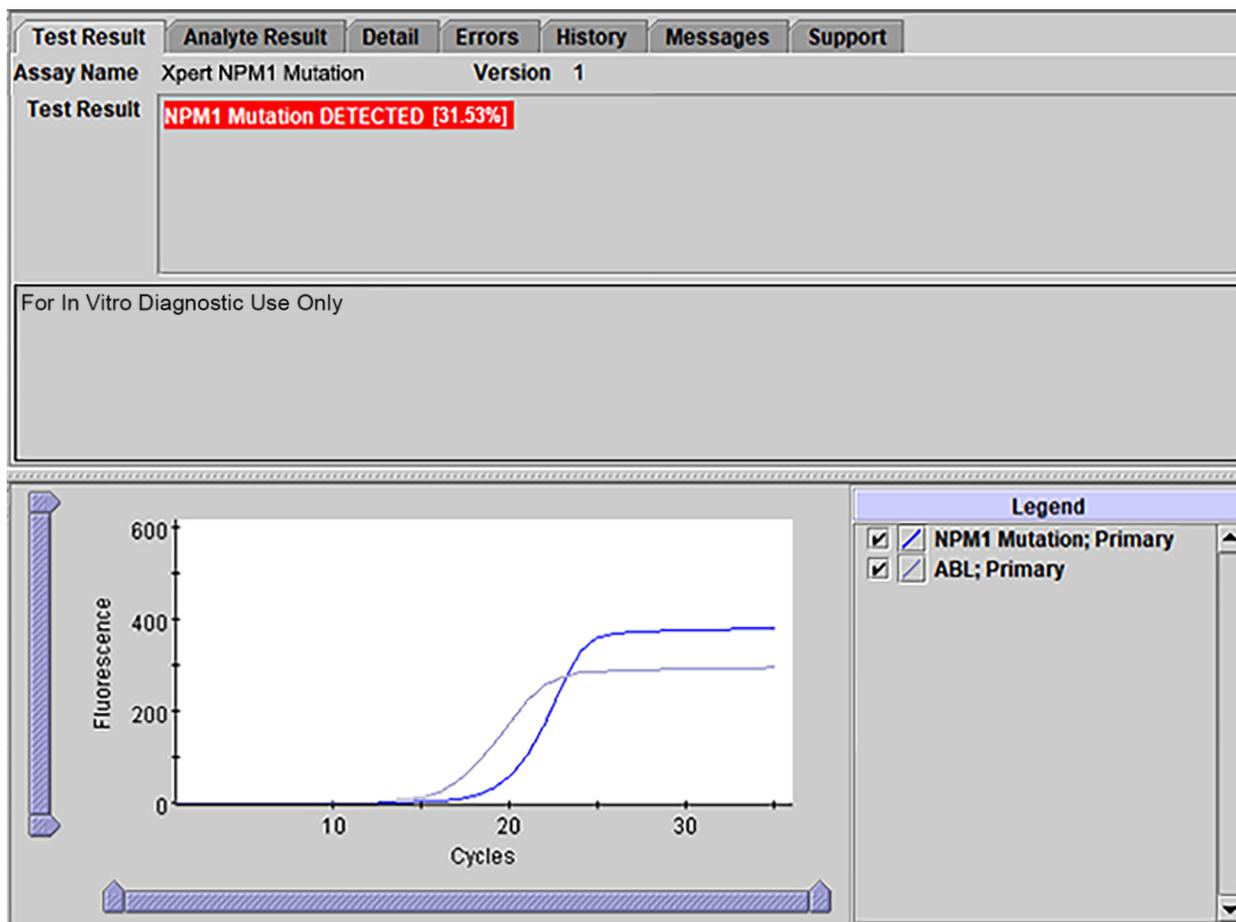
$$\% = E_{\Delta Ct}^{(\Delta Ct)} \times 100 \times \text{Faktor Penskalaan}$$

Faktor Penskalaan (*SF*, Scaling Factor) adalah parameter spesifik lot yang disematkan dalam kode batang kartrid asai. Nilai faktor ini dan Efisiensi asai spesifik lot ($E_{\Delta Ct}$) ditentukan dalam pengujian kendali mutu setiap lot asai

Catatan menggunakan standar primer yang dikalibrasi terhadap jumlah salinan kalibrator sintetik RNA tertranskripsi *in vitro* (IVT-RNA, in vitro transcribed RNA) NPM1 mutation dan ABL1 untuk kuantitasi transkrip NPM1 mutation. $E_{\Delta Ct}$ ditetapkan sebesar 1,95 dan nilai *SF* ditetapkan sebesar 1,79 untuk digunakan dalam contoh yang diperlihatkan di sini.

Contoh: $E_{\Delta Ct}$ spesifik lot = 1,95; *SF* = 1,79
 Ct ABL Asai = 14,5; Ct NPM1 Mutation = 17,1; ΔCt = -2,6
 $\% = 1,95^{(-2,6)} \times 100 \times 1,79 = 31,53\%$

Hasil: **NPM1 Mutation TERDETEKSI [31,53%] (NPM1 Mutation DETECTED [31.53%])**. Lihat Gambar 2.



Gambar 2. GeneXpert DxJendela Lihat Hasil : NPM1 Mutation TERDETEKSI [31,53%] (NPM1 Mutation DETECTED [31.53%])

16.2 NPM1 Mutation TERDETEKSI [Di atas LoQ atas] (NPM1 Mutation DETECTED [Above upper LoQ])

NPM1 mutation telah terdeteksi pada kadar > 500%.

Untuk hasil “**NPM1 Mutation TERDETEKSI [Di atas LoQ atas] (NPM1 Mutation DETECTED [Above upper LoQ])**”, NPM1 mutation dapat dideteksi dengan Ct NPM1 Mutation lebih besar dari atau sama dengan “6” dan lebih kecil dari atau sama dengan “32”, dan Ct ABL lebih besar dari atau sama dengan “6” dan lebih kecil dari atau sama dengan “20”. Perangkat lunak GeneXpert menghitung % menggunakan persamaan berikut, dengan nilai Delta Ct (ΔCt) diperoleh dari Ct ABL dikurangi Ct NPM1 Mutation:

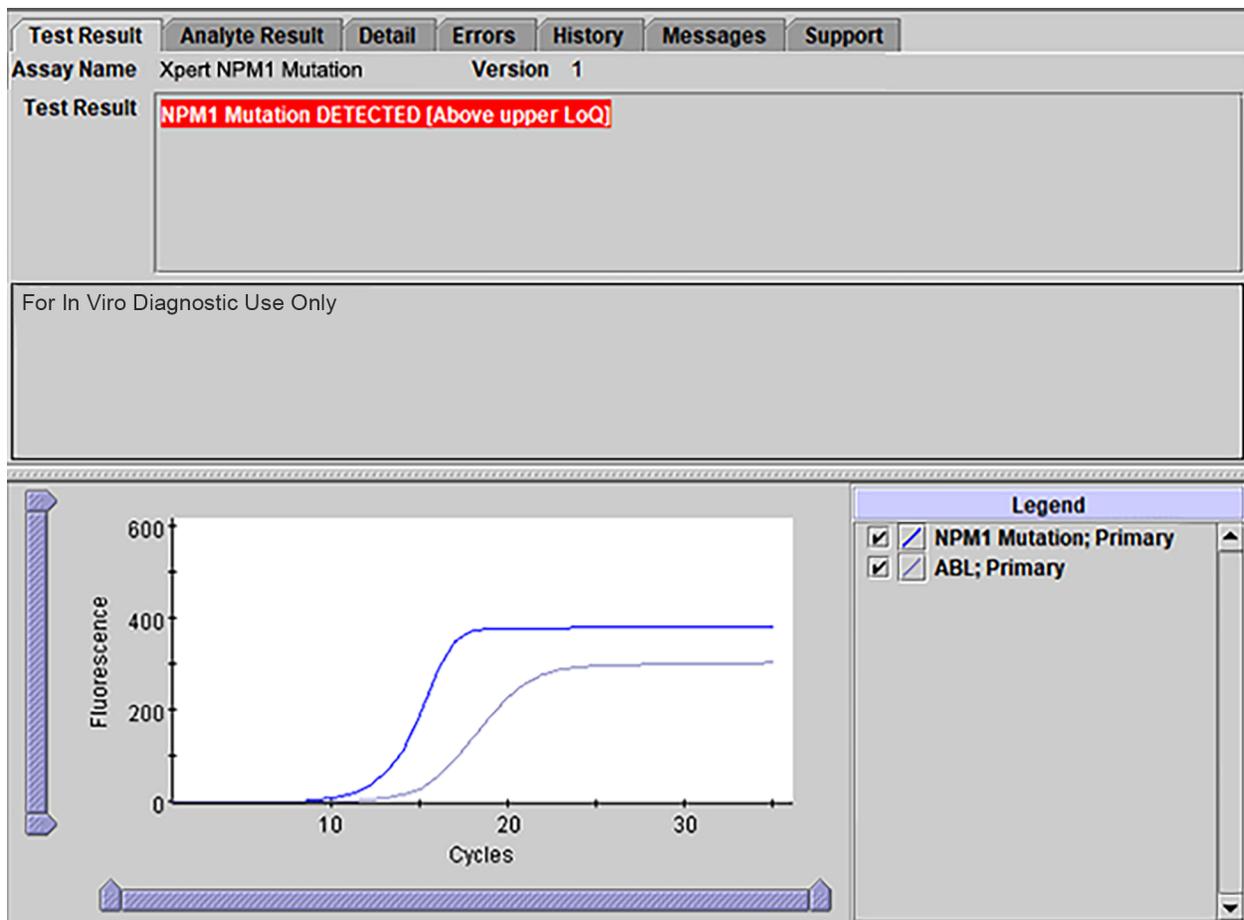
$$\% = E_{\Delta Ct}^{(\Delta Ct)} \times 100 \times \text{Faktor Penskalaan (SF)}$$

Catatan

Faktor Penskalaan (SF, Scaling Factor) adalah parameter spesifik lot yang disematkan dalam kode batang kartrid asai. Nilai faktor ini dan Efisiensi asai spesifik lot ($E_{\Delta Ct}$) ditentukan dalam pengujian kendali mutu setiap lot asai menggunakan standar primer yang dikalibrasi terhadap jumlah salinan kalibrator sintetik RNA tertranskripsi *in vitro* (IVT-RNA, in vitro transcribed RNA) NPM1 mutation dan ABL1 untuk kuantitasi transkrip NPM1 mutation. $E_{\Delta Ct}$ ditetapkan sebesar 1,95 dan nilai SF ditetapkan sebesar 1,79 untuk digunakan dalam contoh yang diperlihatkan di sini.

Contoh: $E_{\Delta Ct}$ spesifik lot = 1,95; SF = 1,79
 Ct ABL Asai = 13,4; Ct NPM1 Mutation = 10,2; $\Delta Ct = 3,2$
 $\% = 1,95^{(3,2)} \times 100 \times 1,79 = 1516,92\%$ lebih besar dari LoQ atas asai yang ditentukan pada 500%

Hasil: **NPM1 Mutation TERDETEKSI [Di atas LoQ atas] (NPM1 Mutation DETECTED [Above upper LoQ])**. Lihat Gambar 3.



Gambar 3. GeneXpert DxJendela Lihat Hasil : NPM1 Mutation TERDETEKSI [Di atas LoQ atas] (NPM1 Mutation DETECTED [Above upper LoQ])

16.3 NPM1 Mutation TERDETEKSI [Di bawah LoD; <0,030%] (NPM1 Mutation DETECTED [Below LoD; <0.030%])

NPM1 mutation telah terdeteksi pada kadar < 0,030%.

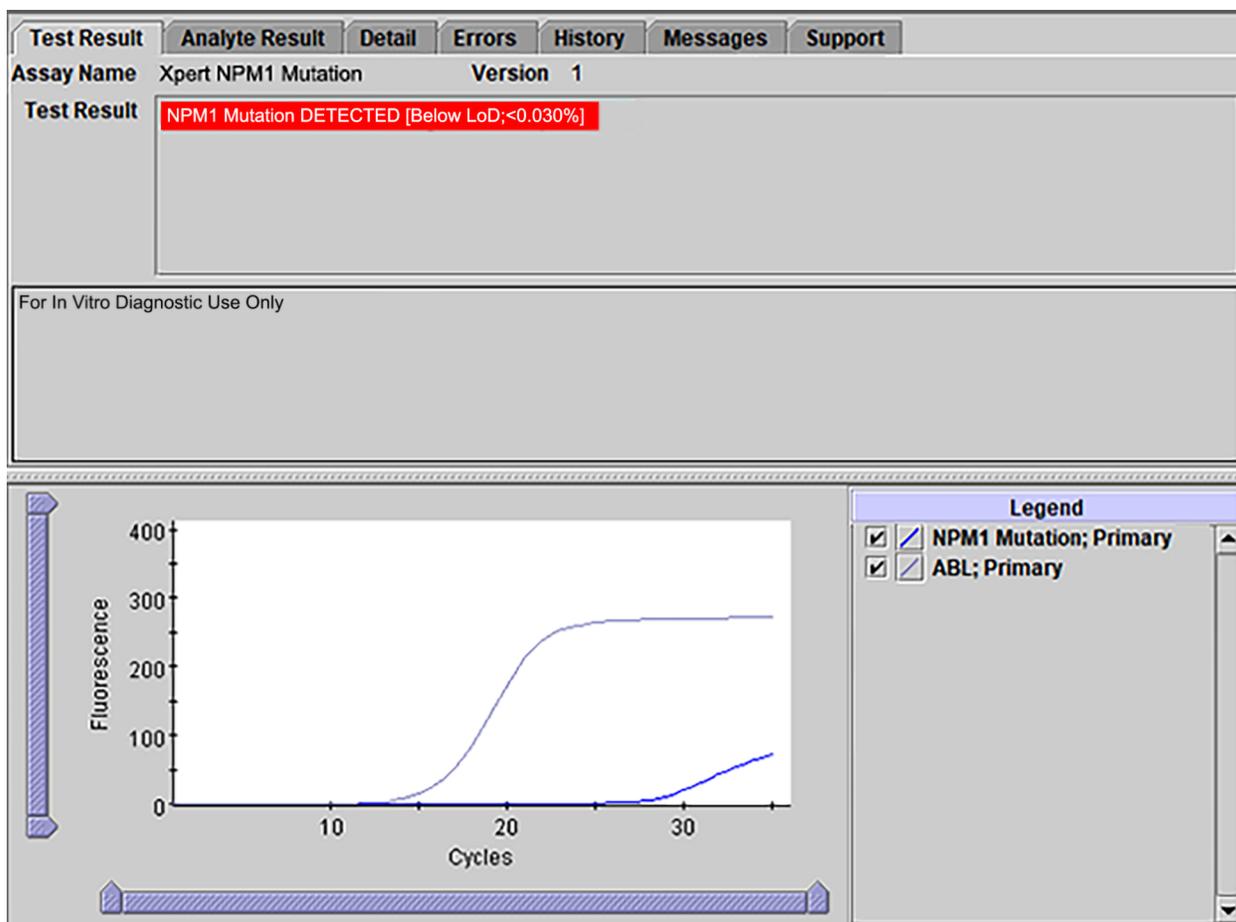
Untuk hasil “**NPM1 Mutation TERDETEKSI [Di bawah LoD; <0,030%] (NPM1 Mutation DETECTED [Below LoD; <0.030%])**”, NPM1 mutation dapat dideteksi dengan Ct NPM1 Mutation lebih besar dari atau sama dengan “6” dan lebih kecil dari atau sama dengan “32”, dan Ct ABL lebih besar dari atau sama dengan “6” dan lebih kecil dari atau sama dengan “20”. Perangkat lunak GeneXpert menghitung % menggunakan persamaan berikut, dengan nilai Delta Ct (ΔCt) diperoleh dari Ct ABL dikurangi Ct NPM1 Mutation:

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

Catatan Faktor Penskalaan (SF, Scaling Factor) adalah parameter spesifik lot yang disematkan dalam kode batang kartrid asai. Nilai faktor ini dan Efisiensi asai spesifik lot ($E_{\Delta Ct}$) ditentukan dalam pengujian kendali mutu setiap lot asai menggunakan standar primer yang dikalibrasi terhadap jumlah salinan kalibrator sintetik RNA tertranskripsi *in vitro* (IVT-RNA, in vitro transcribed RNA) NPM1 mutation dan ABL1 untuk kuantitasi transkrip NPM1 mutation. $E_{\Delta Ct}$ ditetapkan sebesar 1,95 dan nilai SF ditetapkan sebesar 1,79 untuk digunakan dalam contoh yang diperlihatkan di sini.

Contoh: $E_{\Delta Ct}$ spesifik lot = 1,95; SF = 1,79
 Ct ABL Asai = 14,3; Ct NPM1 Mutation = 28,8; $\Delta Ct = -14,5$
 $\% = 1,95^{(-14,5)} \times 100 \times 1,79 = 0,011\%$ lebih kecil dari LoD asai yang ditentukan pada 0,030%

Hasil: **NPM1 Mutation TERDETEKSI [Di bawah LoD; <0,030%] (NPM1 Mutation DETECTED [Below LoD; <0.030%])**. Lihat Gambar 4.



Gambar 4. Jendela Lihat Hasil (View Results) GeneXpert: NPM1 Mutation TERDETEKSI [Di bawah LoD; <0,030%] (NPM1 Mutation DETECTED [Below LoD; <0.030%])

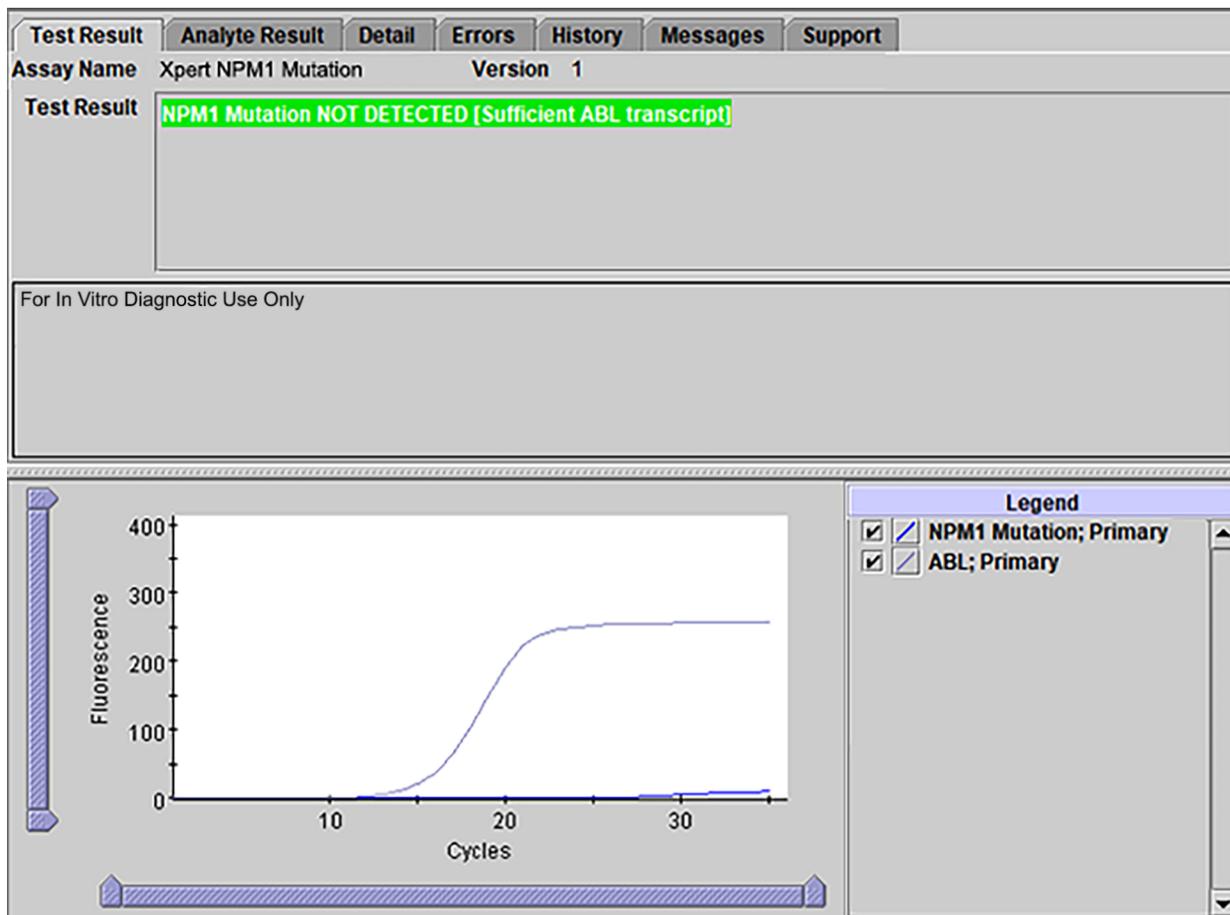
16.4 NPM1 Mutation TIDAK TERDETEKSI [Transkrip ABL mencukupi] (NPM1 Mutation NOT DETECTED [Sufficient ABL transcript])

NPM1 mutation tidak terdeteksi dengan Ct NPM1 sama dengan “0” atau lebih besar dari “32”, serta Ct ABL lebih besar dari “6” dan lebih kecil dari atau sama dengan “20”.

Perangkat lunak GeneXpert membutuhkan Ct ABL lebih besar dari atau sama dengan “6” dan lebih kecil dari atau sama dengan “20” untuk uji Xpert NPM1 Mutation guna memastikan memiliki “Transkrip ABL mencukupi (Sufficient ABL transcript)”. Lihat Bagian 15, Interpretasi Hasil, Tabel 1.

Contoh: Ct NPM1 Mutation Asai = 0; Ct ABL = 14,0 adalah antara "6" dan "20".

Hasil: **NPM1 Mutation TIDAK TERDETEKSI [Transkrip ABL mencukupi] (NPM1 Mutation NOT DETECTED [Sufficient ABL transcript]).** Lihat Gambar 5.



Gambar 5. Jendela Lihat Hasil (View Results) GeneXpert: NPM1 Mutation TIDAK TERDETEKSI [Transkrip ABL mencukupi] (NPM1 Mutation NOT DETECTED [Sufficient ABL transcript])

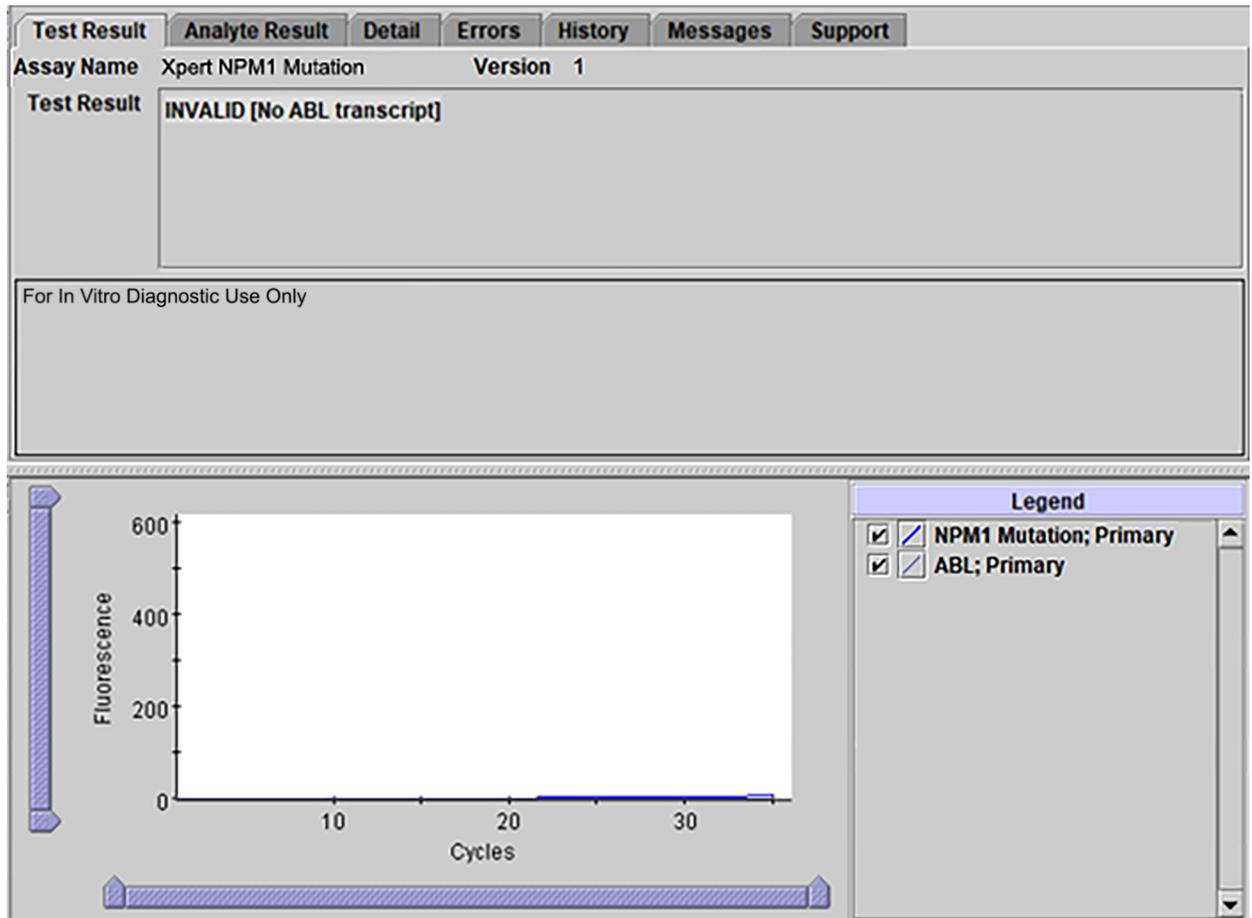
16.5 TIDAK VALID [Tidak ada transkrip ABL] (INVALID [No ABL transcript])

NPM1 mutation terdeteksi atau tidak terdeteksi dengan Ct ABL sama dengan “0”.

Perangkat lunak GeneXpert membutuhkan Ct ABL lebih besar dari atau sama dengan “6” dan lebih kecil dari atau sama dengan “20” untuk uji Xpert NPM1 Mutation guna memastikan memiliki “Transkrip ABL mencukupi (Sufficient ABL transcript)”. Lihat Bagian 18, Panduan Pemecahan Masalah.

Contoh: Ct NPM1 Mutation Asai = 0; Ct ABL = 0.

Hasil: TIDAK VALID [Tidak ada transkrip ABL] (INVALID [No ABL transcript]). Lihat Gambar 6.



Gambar 6. Jendela Lihat Hasil (View Results) GeneXpert: TIDAK VALID [Tidak ada transkrip ABL] (INVALID [No ABL transcript])

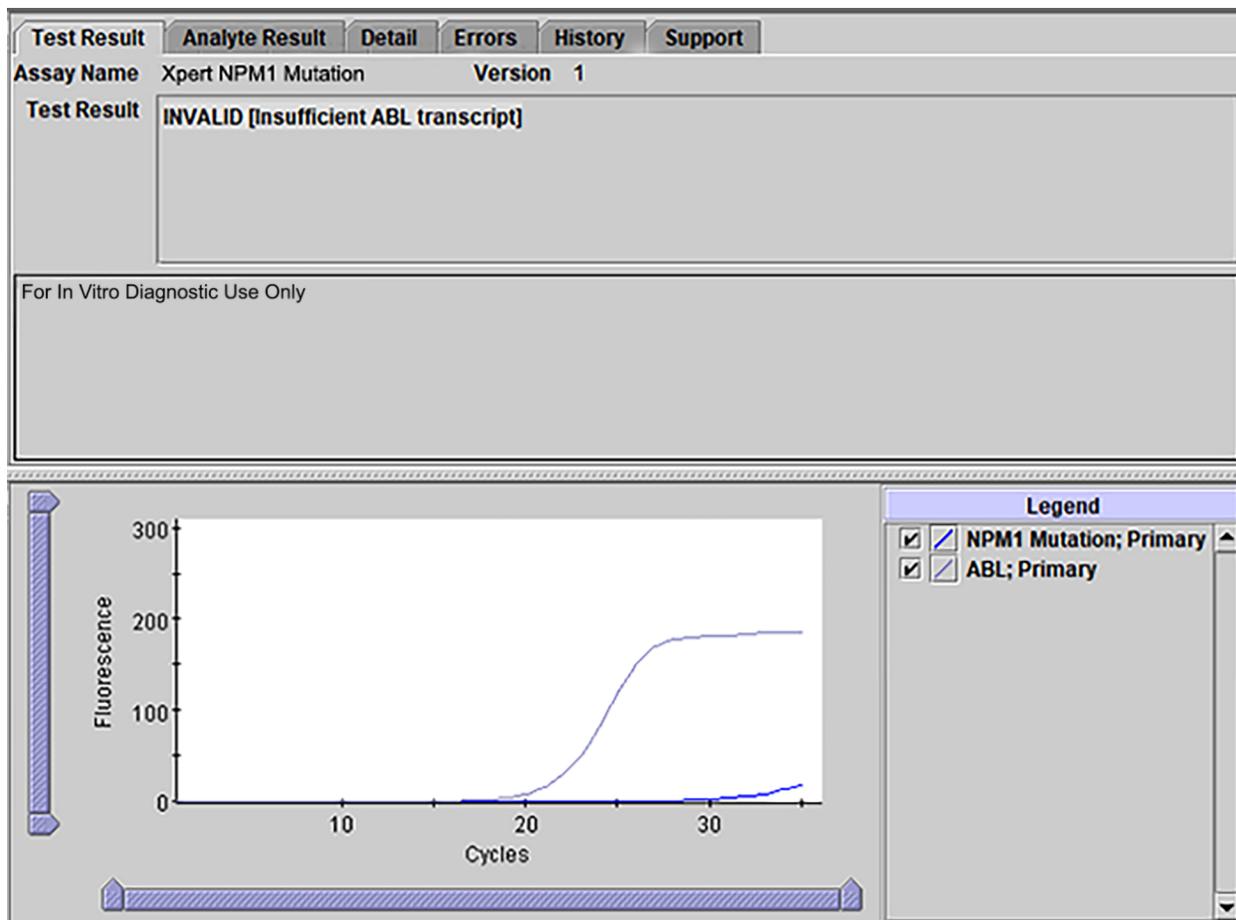
16.6 TIDAK VALID [Transkrip ABL tidak mencukupi] (INVALID [Insufficient ABL transcript])

NPM1 mutation terdeteksi atau tidak terdeteksi dengan Ct ABL lebih besar dari “20”.

Perangkat lunak GeneXpert membutuhkan Ct ABL lebih besar dari atau sama dengan “6” dan lebih kecil dari atau sama dengan “20” untuk uji Xpert NPM1 Mutation guna memastikan memiliki “Transkrip ABL mencukupi (Sufficient ABL transcript)”. Lihat Bagian 18, Panduan Pemecahan Masalah.

Contoh: Ct NPM1 Mutation Asai = 33,3; Ct ABL = 20,2 adalah lebih besar dari "20".

Hasil: **TIDAK VALID [Transkrip ABL tidak mencukupi] (INVALID [Insufficient ABL transcript])**. Lihat Gambar 7.



Gambar 7. Jendela Lihat Hasil (View Results) GeneXpert: TIDAK VALID [Transkrip ABL tidak mencukupi] (INVALID [Insufficient ABL transcript])

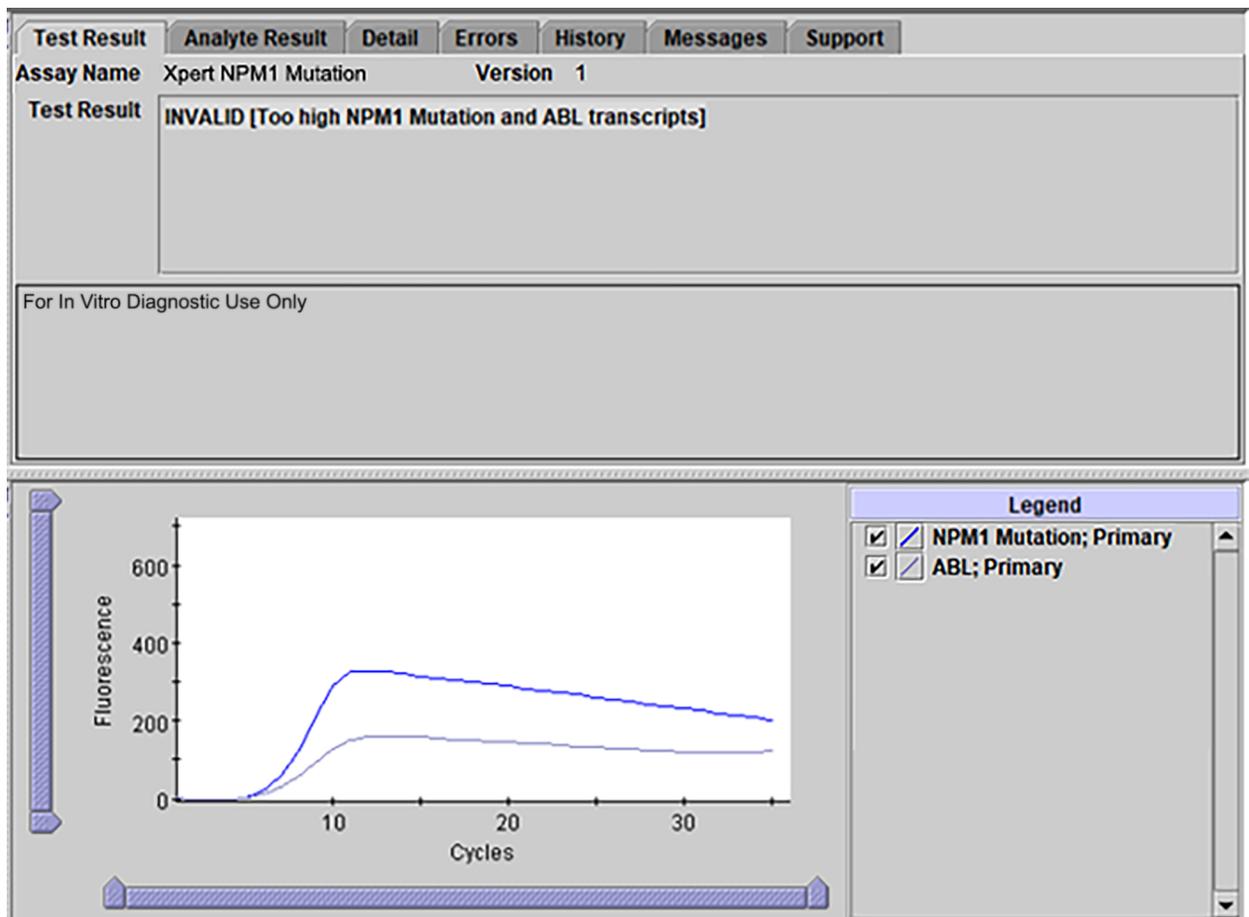
16.7 TIDAK VALID [Transkrip NPM1 Mutation dan ABL terlalu tinggi] (INVALID [Too high NPM1 Mutation and ABL transcript])

NPM1 mutation terdeteksi baik dengan Ct NPM1 Mutation maupun Ct ABL lebih besar dari "0" dan lebih kecil dari "6".

Perangkat lunak GeneXpert membutuhkan Ct ABL lebih besar dari atau sama dengan "6" dan lebih kecil dari atau sama dengan "20" untuk uji Xpert NPM1 Mutation guna memastikan memiliki "Transkrip ABL mencukupi (Sufficient ABL transcript)". Lihat Bagian 18, Panduan Pemecahan Masalah.

Contoh: Ct NPM1 Mutation Asai = 5,4 adalah lebih besar dari "0" dan lebih kecil dari "6"; Ct ABL = 5,9 adalah lebih kecil dari "6".

Hasil: **TIDAK VALID [Transkrip NPM1 Mutation dan ABL terlalu tinggi] (INVALID [Too high NPM1 Mutation and ABL transcript])**. Lihat Gambar 8.



Gambar 8. GeneXpert DxJendela Lihat Hasil : TIDAK VALID [Transkrip NPM1 Mutation dan ABL terlalu tinggi] (INVALID [Too high NPM1 Mutation and ABL transcript])

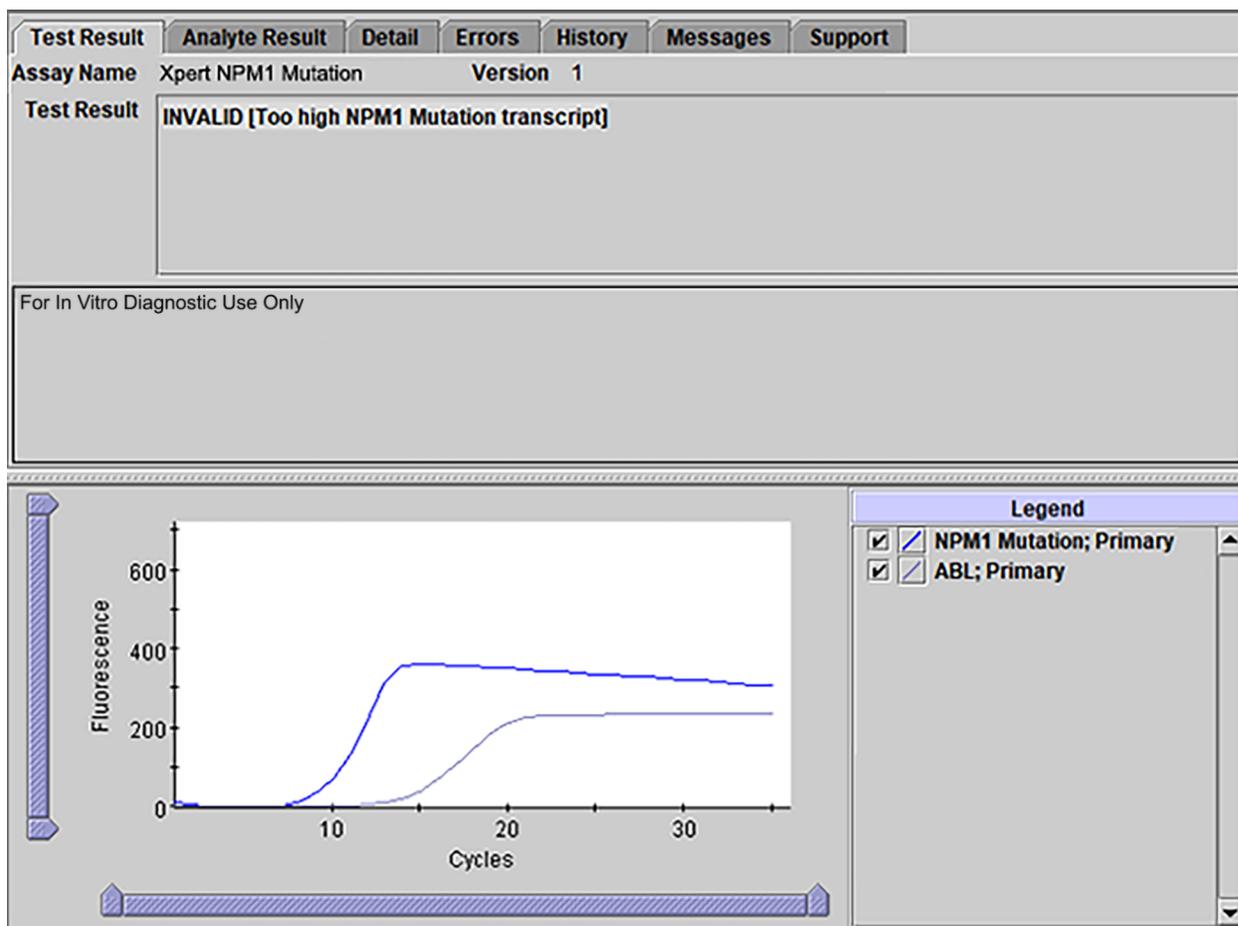
16.8 TIDAK VALID [Transkrip NPM1 Mutation terlalu tinggi] (INVALID [Too high NPM1 Mutation transcript])

NPM1 mutation terdeteksi dengan Ct NPM1 Mutation lebih besar dari “0” dan lebih kecil dari “6”, dan Ct ABL lebih besar dari “6” dan lebih kecil dari atau sama dengan “20”.

Perangkat lunak GeneXpert membutuhkan Ct ABL lebih besar dari atau sama dengan “6” dan lebih kecil dari atau sama dengan “20” untuk uji Xpert NPM1 Mutation guna memastikan memiliki “Transkrip ABL mencukupi (Sufficient ABL transcript)”. Lihat Bagian 18, Panduan Pemecahan Masalah.

Contoh: Ct NPM1 Mutation Asai = 5,8 adalah lebih besar dari "0" dan lebih kecil dari "6"; Ct ABL = 13 adalah antara "6" dan "20".

Hasil: **TIDAK VALID [Transkrip NPM1 Mutation terlalu tinggi] (INVALID [Too high NPM1 Mutation transcript])**. Lihat Gambar 9.



Gambar 9. Jendela Lihat Hasil (View Results) GeneXpert: TIDAK VALID [Transkrip NPM1 Mutation terlalu tinggi] (INVALID [Too high NPM1 Mutation transcript])

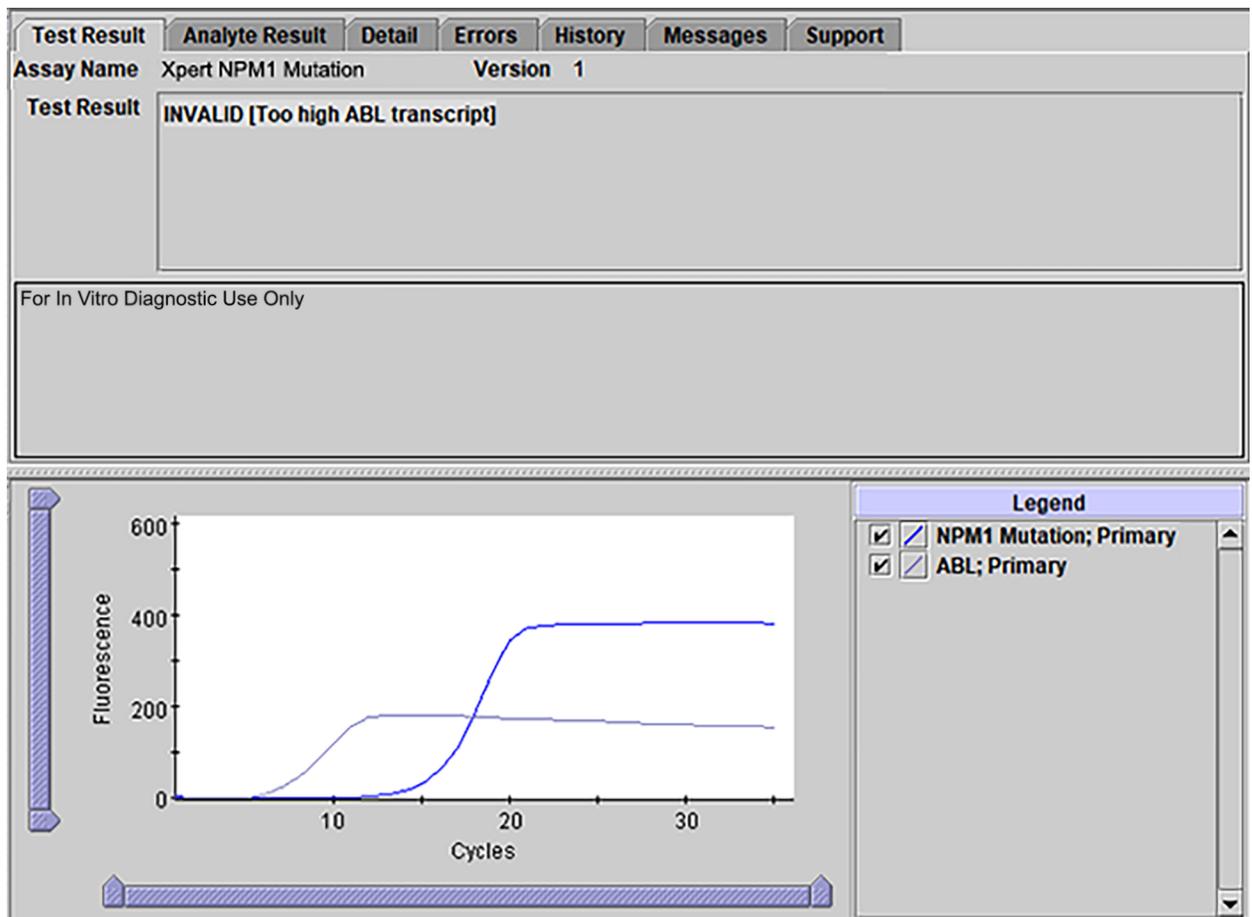
16.9 TIDAK VALID [Transkrip ABL Mutation terlalu tinggi] (INVALID [Too high ABL Mutation transcript])

NPM1 mutation terdeteksi dengan Ct NPM1 Mutation lebih besar dari “6” dan lebih kecil dari atau sama dengan “32”, serta Ct ABL tidak sama dengan “0” dan lebih kecil dari “6”.

Perangkat lunak GeneXpert membutuhkan Ct ABL lebih besar dari atau sama dengan “6” dan lebih kecil dari atau sama dengan “20” untuk uji Xpert NPM1 Mutation guna memastikan memiliki “Transkrip ABL mencukupi (Sufficient ABL transcript)”. Lihat Bagian 18, Panduan Pemecahan Masalah.

Contoh: Ct NPM1 Mutation Asai = 13,2; Ct ABL = 5,8 adalah lebih kecil dari “6”.

Hasil: **TIDAK VALID [Transkrip ABL terlalu tinggi] (INVALID [Too high ABL transcript])**. Lihat Gambar 10.



Gambar 10. Jendela Lihat Hasil (View Results) GeneXpert: TIDAK VALID [Transkrip ABL terlalu tinggi] (INVALID [Too high ABL transcript])

16.10 KESALAHAN (ERROR)



Gambar 11. Jendela Lihat Hasil (View Results) GeneXpert: KESALAHAN (ERROR)

17 Batasan Asai

- Asai tidak ditujukan untuk digunakan dengan kalibrator eksternal.
- Modifikasi terhadap berbagai prosedur ini dapat mengubah fungsi asai.
- Produk ini dirancang untuk digunakan dengan darah yang dikumpulkan hanya dalam tabung-tabung EDTA.
- Jangan menggunakan heparin sebagai antikoagulan karena zat ini dapat menghambat reaksi PCR.
- Tipe-tipe sampel natrium sitrat, buffy-coat, dan sumsum tulang belum divalidasi.
- Hasil asai yang keliru dapat muncul akibat pengumpulan, penanganan, atau penyimpanan sampel yang tidak semestinya, atau sampel yang tertukar. Kepatuhan yang saksama terhadap Petunjuk Penggunaan ini diperlukan untuk menghindari hasil yang keliru.
- Mutasi atau polimorfisme dalam primer atau wilayah pengikat probe dapat memengaruhi deteksi dari varian baru atau yang tidak diketahui, dan dapat memberikan hasil negatif palsu.
- Hitungan sel darah putih yang tinggi secara berlebihan dapat menyebabkan tekanan menumpuk di dalam kartrid dan menyebabkan proses terhenti atau hasil tidak akurat.
- Beberapa sampel dengan kadar transkrip ABL yang sangat rendah atau dengan sel darah putih lebih rendah dari 150.000 sel/ml dapat dilaporkan sebagai **TIDAK VALID (INVALID)** (Tipe 1). Suatu hasil yang tidak dapat ditentukan tidak mengecualikan keberadaan sel leukemia dengan kadar sangat rendah dalam sampel tersebut.

18 Panduan Pemecahan Masalah

Tabel 3. Panduan Pemecahan Masalah

Hasil Asai	Kemungkinan Penyebab	Saran
TIDAK VALID (INVALID)	<p>Tipe 1: Kegagalan ABL kontrol endogen:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Kualitas sampel yang buruk • Penghambatan RT-PCR • Ct ABL > 20, dan/atau titik akhir < 100 	<ul style="list-style-type: none"> • Periksa kualitas sampel (misalnya, melampaui persyaratan penyimpanan sampel, termasuk waktu dan suhu). • Ulangi asai dengan sampel awal (jika tersedia) atau dari lisat yang disimpan, serta dengan kartrid baru sesuai dengan prosedur yang dijelaskan pada Bagian 19.1, Prosedur Uji Ulang untuk KESALAHAN (ERROR) atau TIDAK VALID (INVALID) (Tipe 1).
	<p>Tipe 2: Kadar transkrip NPM1 Mutation tidak dapat ditentukan karena sampel mengandung transkrip NPM1 Mutation dan/atau ABL berlebih (Ct < 6)</p>	<p>Ulangi asai dengan sampel awal (jika tersedia) atau dari lisat yang disimpan, serta dengan kartrid baru sesuai dengan prosedur yang dijelaskan pada Bagian 19.2, Prosedur Uji Ulang untuk KESALAHAN (ERROR) (Kode 2008) atau TIDAK VALID (INVALID) (Tipe 2).</p>
KESALAHAN (ERROR) (Kode 2008)	<p>Tekanan melebihi batas (pesan kesalahan 2008)</p>	<ul style="list-style-type: none"> • Periksa kualitas sampel • Periksa hitungan WBC yang meningkat secara kasar • Ulangi asai dengan sampel awal (jika tersedia) atau dari lisat yang disimpan, serta dengan kartrid baru sesuai dengan prosedur yang dijelaskan pada Bagian 19.2, Prosedur Uji Ulang untuk KESALAHAN (ERROR) (Kode 2008) atau TIDAK VALID (INVALID) (Tipe 2).
<p>KESALAHAN (ERROR) (Kode 5006, 5007, 5008, dan 5009*)</p> <p>*Daftar ini tidak mencantumkan semua kode KESALAHAN (ERROR).</p>	<p>Kegagalan pemeriksaan probe</p>	<p>Ulangi asai dengan sampel awal (jika tersedia) atau dari lisat yang disimpan, serta dengan kartrid baru sesuai dengan prosedur yang dijelaskan pada Bagian 19.1, Prosedur Uji Ulang untuk KESALAHAN (ERROR) atau TIDAK VALID (INVALID) (Tipe 1).</p>
TIDAK ADA HASIL (NO RESULT)	<p>Kegagalan pengumpulan data. Misalnya, operator menghentikan asai yang sedang berlangsung atau terjadi listrik padam.</p>	<p>Ulangi asai dengan sampel awal (jika tersedia) atau dari lisat yang disimpan, serta dengan kartrid baru sesuai dengan prosedur yang dijelaskan pada Bagian 19.1, Prosedur Uji Ulang untuk KESALAHAN (ERROR) atau TIDAK VALID (INVALID) (Tipe 1).</p>

19 Uji Ulang

19.1 Prosedur Uji Ulang untuk KESALAHAN (ERROR) atau TIDAK VALID (INVALID) (Tipe 1)

Uji ulang sampel dengan hasil **KESALAHAN (ERROR)** atau **TIDAK VALID (INVALID)** akibat ambang batas siklus (Ct) ABL melampaui Ct maksimum yang valid (Ct >20) atau titik akhir berada di bawah pengaturan ambang batas (<100). Lihat pula Bagian 18, Panduan Pemecahan Masalah.

1. Jika tersedia volume sampel darah yang mencukupi, lakukan uji ulang dari tabung pengumpulan sampel darah awal dengan mengikuti prosedur pada Bagian 12.2.

-ATAU-

Jika volume sampel darah tidak mencukupi, uji ulang dapat dilakukan dengan lisat yang disimpan dari Bagian 12.2.1, Langkah 12.

- a. Jika lisat yang disimpan dari Bagian 12.2.1, Langkah 12 disimpan dalam keadaan beku, cairkan hingga suhu ruangan sebelum digunakan.
 - b. Pastikan lisat tercampur dengan baik dengan mencampur sampel menggunakan mikser vorteks pada pengaturan maksimum secara terus-menerus selama 10 detik, dan sisihkan selama 3 menit agar gelembungnya menghilang.
2. Pindahkan 1 ml lisat yang telah disiapkan ke dalam tabung kerucut 50 ml baru.
 3. Ikuti Langkah 13-17 pada Bagian 12.2.1 untuk membuat lisat akhir.
 4. Buka kartrid dengan mengangkat tutup kartrid dan pindahkan seluruh isi dari satu (1) ampul Reagensia Pencuci ke ruang Reagensia Pencuci (dengan bukaan kecil). Lihat Gambar 1.
 5. Pipetkan seluruh isi dari sampel yang disiapkan ke dalam Ruang Sampel (bukaan besar). Lihat Gambar 1.
 6. Tutuplah penutup kartrid. Inisiasi asai (lihat Bagian 12.4, Memulai Asai).

19.2 Prosedur Uji Ulang untuk KESALAHAN (ERROR) (Kode 2008) atau TIDAK VALID (INVALID) (Tipe 2)

Uji ulang sampel dengan kadar transkrip NPM1 mutation dan/atau ABL di bawah Ct minimum yang valid (Ct > 0 dan Ct < 6) dan/atau ketika batas tekanan terlampaui. Lihat pula Bagian 18, Panduan Pemecahan Masalah.

1. Ke bagian dasar tabung kerucut 50 ml baru, tambahkan 100 µl PK (Proteinase K).
2. Pastikan bahwa sampel darah atau lisat sisa dari Bagian 12.2, Langkah 12 tercampur dengan baik dengan cara membalik tabung sebanyak 8 kali segera sebelum melakukan pemipetan.
3. Ke tabung yang telah berisi Proteinase K, tambahkan 250 µl sampel darah dan 3,75 ml PBS (pH 7,4, disediakan oleh pengguna), jika tersedia, atau 60 µl lisat yang disimpan dari Bagian 12.2.1, Langkah 12.
 - a. Jika lisat yang disimpan dari Bagian 12.2.1, Langkah 12 disimpan dalam keadaan beku, cairkan hingga suhu ruangan sebelum digunakan.
 - b. Pastikan lisat tercampur dengan baik dengan mencampur sampel menggunakan mikser vorteks pada pengaturan maksimum secara terus-menerus selama 10 detik, dan sisihkan selama 3 menit agar gelembungnya menghilang.
4. Campur sampel menggunakan mikser vorteks dengan pengaturan maksimum secara terus-menerus, selama 3 detik.
5. Inkubasikan spesimen selama 1 menit pada suhu ruangan.
6. Untuk sampel uji ulang dari darah dengan PBS, ikuti Langkah 6-17 pada Bagian 12.2.1, untuk membuat lisat akhir. Untuk sampel uji ulang dari lisat yang disimpan, ikuti Langkah a-g di bawah untuk membuat lisat akhir.
 - a. Ke tabung yang berisi sampel uji ulang dari lisat yang disimpan, tambahkan 2,5 ml LY.
 - b. Campur sampel menggunakan mikser vorteks dengan pengaturan maksimum secara terus-menerus, selama 10 detik.
 - c. Inkubasikan selama 5 menit pada suhu ruangan.
 - d. Campur sampel menggunakan mikser vorteks dengan pengaturan maksimum secara terus-menerus, selama 10 detik.
 - e. Inkubasikan selama 5 menit pada suhu ruangan.
 - f. Ke tabung yang sama, tambahkan 2 ml etanol absolut derajat reagensia (disediakan oleh pengguna)
 - g. Campur sampel menggunakan mikser vorteks dengan pengaturan maksimum secara terus-menerus, selama 10 detik. Sisihkan.
7. Buka kartrid dengan mengangkat tutup kartrid dan pindahkan seluruh isi dari satu (1) ampul Reagensia Pencuci ke ruang Reagensia Pencuci (dengan bukaan kecil). Lihat Gambar 1.
8. Pipetkan seluruh isi dari sampel yang disiapkan ke dalam Ruang Sampel (bukaan besar). Lihat Gambar 1.

9. Tutuplah penutup kartrid. Inisiasi asai (lihat Bagian 12.4, Memulai Asai).

20 Nilai Yang Diperkirakan

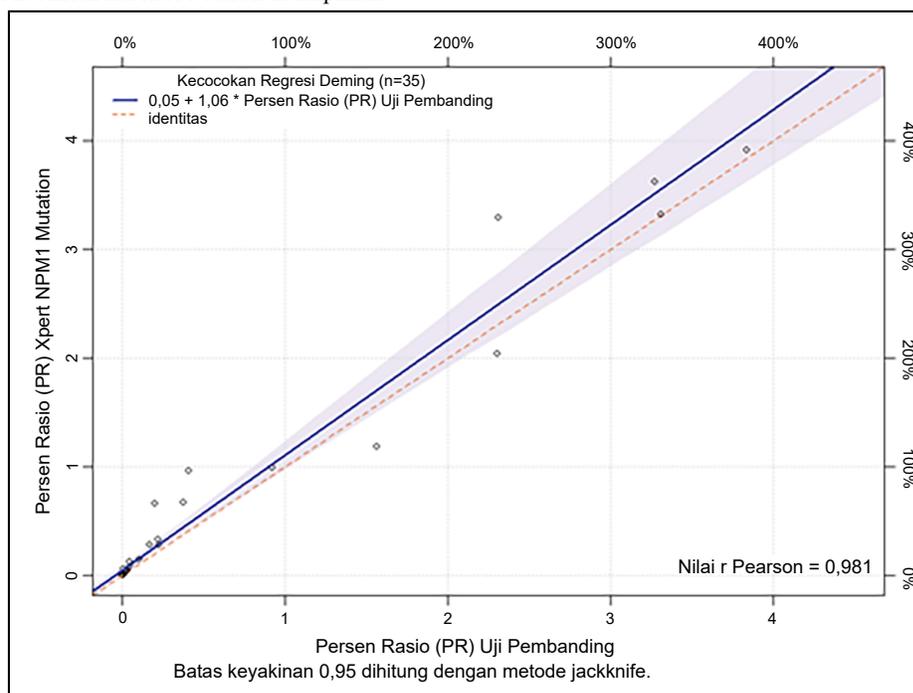
Rentang Xpert NPM1 Mutation mencakup titik-titik keputusan klinis penting untuk memantau AML. Nilai yang diperkirakan dinyatakan sebagai persen rasio mRNA NPM1 Mutation terhadap mRNA ABL dan rentang antara 0,030% dan 500%. Pengukuran di bawah rentang ini dilaporkan sebagai tidak terdeteksi atau di bawah batas deteksi (LoD, limit of detection). Pengukuran di atas rentang ini dilaporkan sebagai di atas batas kuantitasi (LoQ, limit of quantitation). Lihat Bagian 15 untuk informasi terperinci.

21 Kinerja Klinis

Suatu studi pembandingan metode pengamatan multilokasi dilakukan di tiga lokasi di Amerika Serikat dan satu lokasi di luar Amerika Serikat. Spesimen dari 40 pasien AML diskrit dengan NPM1 mutation dari satu titik waktu dan sepanjang rentang dinamik uji Xpert NPM1 Mutation terdaftar dalam studi ini. Usia dan jenis kelamin dikumpulkan untuk pasien yang diambil sampelnya. Distribusi jenis kelamin adalah 11 pria (27,5%) dan 29 wanita (72,5%). Semua sampel berasal dari pasien berusia antara 16 dan 81 tahun dengan rata-rata usia 59,7 tahun.

Seluruh 40 sampel memberikan hasil uji yang valid. Tiga puluh enam dari 40 sampel memberikan hasil dalam rentang kuantitatif pada kedua uji. Empat sampel dikecualikan dari regresi Deming karena sampel-sampel negatif terhadap Xpert NPM1 Mutation dan/atau uji pembandingan. Sampel tambahan dikecualikan karena merupakan pencilan (outlier). Total 35 sampel disertakan dalam analisis regresi Deming.

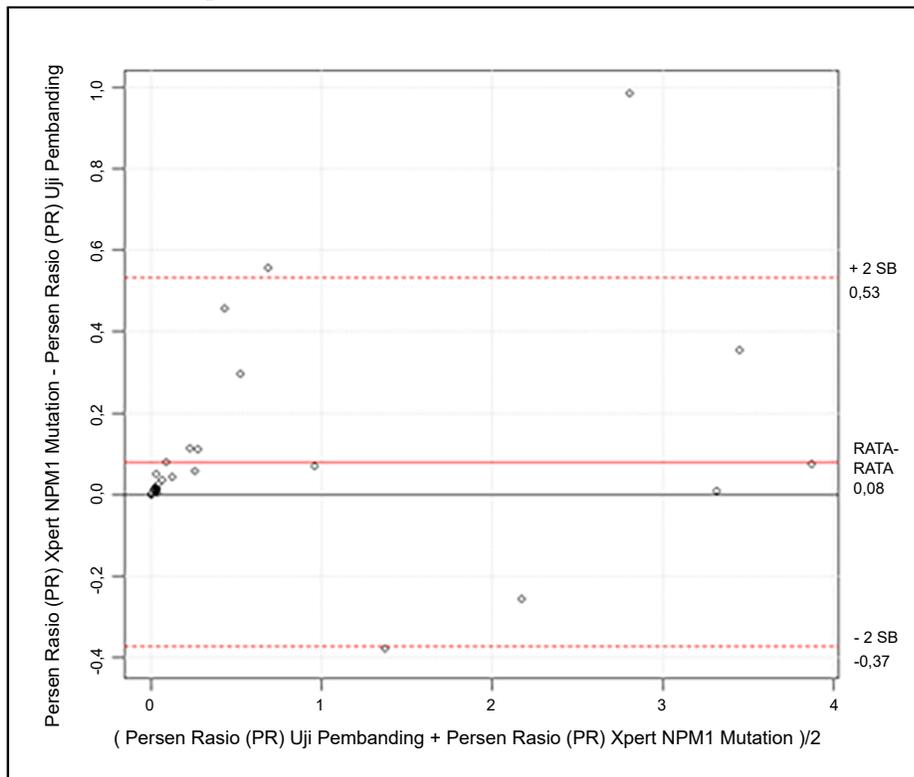
Kinerja dari uji Xpert NPM1 Mutation dibandingkan dengan asai pembandingan, dievaluasi menggunakan Regresi Deming untuk menentukan kemiringan dan perpotongan. Gambar 12 memperlihatkan hasil analisis Regresi Deming, termasuk kemiringan, perpotongan, dan garis identitas pada 35 sampel. Batas keyakinan 95% dihitung dengan menggunakan metode jackknife, dan koefisien korelasi Pearson ditampilkan.



Gambar 12. Regresi Deming untuk Persen Rasio

Kemiringan dan perpotongan untuk persen rasio dari analisis Regresi Deming berturut-turut adalah 1,06 dan 0,05, dan korelasi Pearson sebesar 0,981 antara pengukuran uji Xpert NPM1 Mutation dan uji pembandingan.

Analisis Bland-Altman untuk selisih persen rasio dievaluasi pada 35 sampel dengan hasil kuantitatif yang berada dalam rentang linear Xpert NPM1 Mutation dan uji pembandingan. Gambar 13 menunjukkan plot Bland-Altman dengan selisih persen rasio antara kedua uji dibandingkan dengan hasil persen rasio rata-rata untuk setiap sampel. Plot juga menunjukkan batas atas dan batas bawah dua simpangan baku (2SB) dari rata-rata selisih yang diamati dalam studi ini.



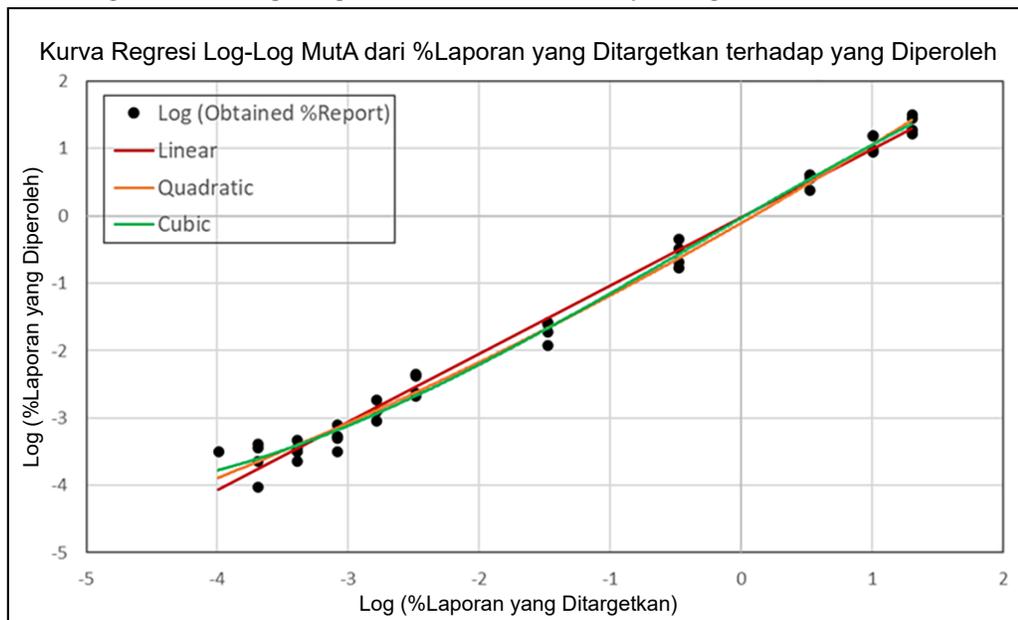
Gambar 13. Plot Bland-Altman untuk Xpert NPM1 Mutation dan Persen Rasio Uji Pembandingan

Rata-rata selisih persen rasio antara Xpert NPM1 Mutation dan hasil uji pembandingan adalah 0,08. Mayoritas (91,4%, 32/35) hasil berada dalam 2SB dari rata-rata selisih.

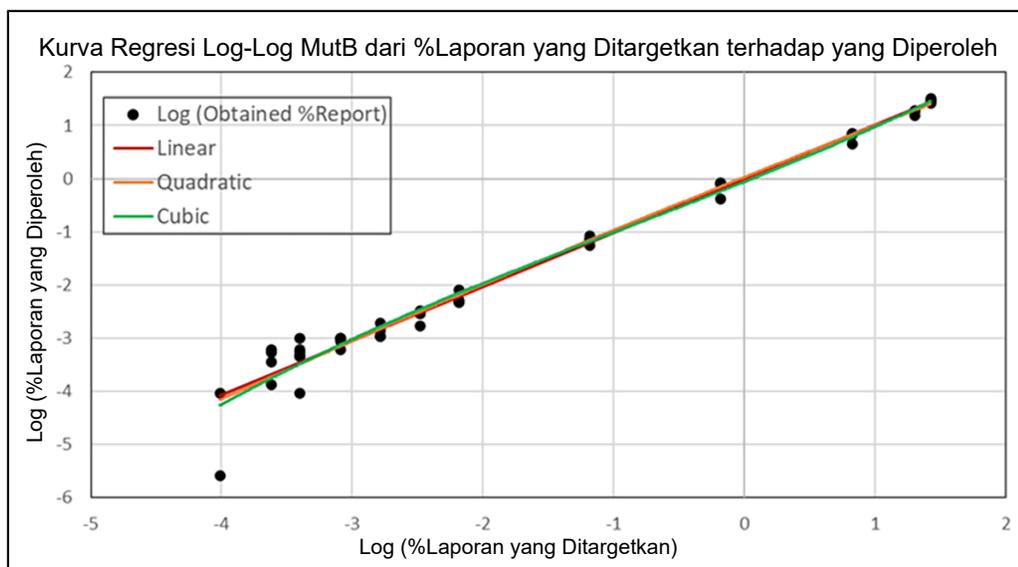
22 Data Analitis

22.1 Linearitas/Rentang Dinamis

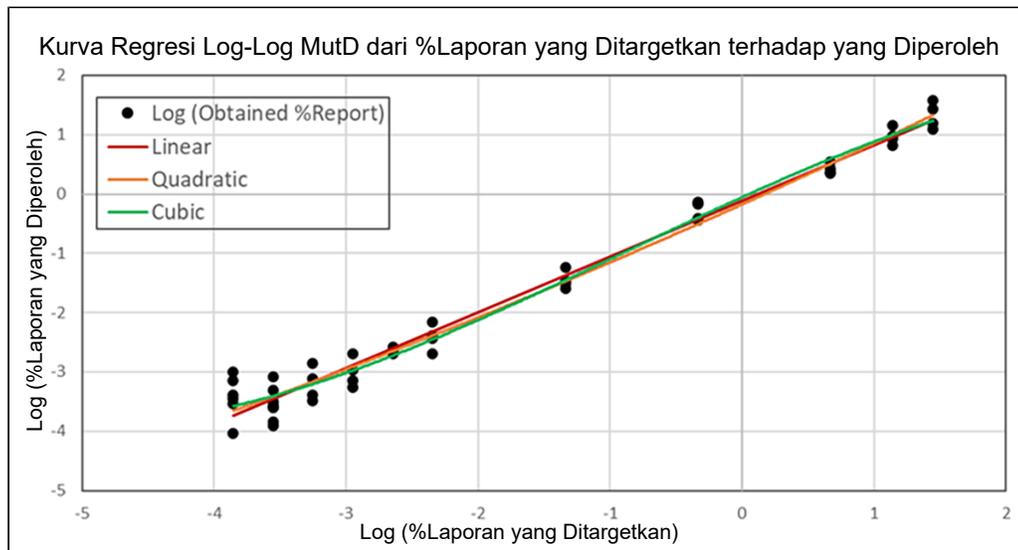
Linearitas ditentukan untuk masing-masing dari ketiga sub tipe mutan NPM1, yaitu mutA, mutB, dan mutD, menggunakan lisat sel yang mengandung setiap transkrip sub tipe dengan kadar yang tinggi. Lisat-lisat tersebut diencerkan dalam lisat latar belakang yang disiapkan dari donor yang diduga NPM1 mutation negatif hingga rentang target ~0,01–2500% NPM1 Mutation/ABL. Seluruh kadar diuji pada satu lot reagensia sebanyak empat kali. Pengujian dan analisis statistik dilakukan sesuai dengan dokumen CLSI EP06-A⁹. Kurva regresi untuk setiap sub tipe ditunjukkan pada Gambar 14, Gambar 15, dan Gambar 16. Rentang linear dari setiap sub tipe dan koefisien model linearnya dirangkum dalam Tabel 4.



Gambar 14. Kurva Regresi untuk mutA



Gambar 15. Kurva Regresi untuk mutB



Gambar 16. Kurva Regresi untuk mutD

Tabel 4. Ringkasan Rentang Linear dan Koefisien Model Linear

Subtipe	Rentang Linear	Perpotongan	Kemiringan	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

Secara kolektif, uji Xpert NPM1 Mutation memperlihatkan linearitas dalam 0,014–2020% NPM1 Mutation/ABL. Dibatasi oleh LoQ dan batas atas perangkat lunak, rentang dinamik yang dapat dilaporkan adalah 0,030–500%.

22.2 Sensitivitas Analitis (Batas Deteksi, Batas Kuantitasi, Batas Kosong)

Batas deteksi (LoD, limit of detection) adalah kadar NPM1 Mutation/ABL terendah dengan 95% sampel secara konsisten dilaporkan sebagai “**NPM1 Mutation TERDETEKSI [##,##%] (NPM1 Mutation DETECTED [##.##%])**”. LoD ditentukan untuk subtipe mutA, mutB, dan mutD masing-masing dengan menguji pengenceran bertingkat dari lisat sel NPM1 mutation positif dan lisat klinis yang membawa setiap subtipe mutasi. LoD yang sesuai diestimasi dan diverifikasi sesuai dengan dokumen CLSI EP17-A2¹⁰. Analisis yang dihasilkan memberikan LoD 0,025% untuk mutA, 0,023% untuk mutB, dan 0,030% untuk mutD (Tabel 5). LoD tertinggi di antara ketiga subtipe pada 0,030% diambil sebagai LoD keseluruhan dari uji Xpert NPM1 Mutation.

Batas kuantitasi (LoQ, limit of quantitation) adalah kadar NPM1 Mutation/ABL terendah yang di atasnya sampel dapat dikuantifikasi dengan simpangan baku $\leq 0,36$ log reduksi (LR, log reduction) untuk rata-rata LR di atas 3,5. Sesuai dengan dokumen CLSI EP17-A2¹⁰, LoQ diestimasi dan diverifikasi pada 0,025% untuk subtipe mutA, 0,023% untuk subtipe mutB, dan 0,030% untuk subtipe mutD (Tabel 5). LoQ tertinggi di antara ketiga subtipe pada 0,030% diambil sebagai LoQ keseluruhan dari uji Xpert NPM1 Mutation.

Batas kosong (LoB, limit of blank) adalah hasil NPM1 Mutation/ABL tertinggi yang diperkirakan di antara 95% sampel kosong dari donor yang diduga NPM1 mutation negatif. Sesuai dengan dokumen CLSI EP17-A2¹⁰, LoB dari uji Xpert NPM1 Mutation diestimasi dan diverifikasi pada 0,0085% (Tabel 5).

Tabel 5. Batas Deteksi, Batas Kuantitasi, dan Batas Kosong dari uji Xpert NPM1 Mutation [% NPM1 Mutation/ABL]

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

22.3 Spesifisitas Analitis

Spesifisitas analitis uji Xpert NPM1 Mutation ditentukan dengan menguji spesimen darah perifer yang telah diberi perlakuan dengan EDTA yang diambil dari dua puluh lima donor sehat.

Tidak ada hasil NPM1 Mutation (NPM1 Mutation) **TERDETEKSI (DETECTED)** yang diperoleh dari spesimen mana pun yang diduga NPM1 mutation negatif yang dievaluasi dalam studi ini. Jadi, uji Xpert NPM1 Mutation spesifik untuk transkrip mRNA NPM1 mutan (tipe A, B, dan D pada ekson 12) yang berkaitan dengan AML dan memiliki spesifisitas analitis sebesar 100% untuk spesimen darah perifer EDTA.

22.4 Evaluasi Kontaminasi Ikutan

Suatu studi dilakukan untuk membuktikan bahwa kartrid GeneXpert swakandung sekali pakai mencegah kontaminasi ikutan dari kartrid yang diproses secara berurutan dalam modul instrumen yang sama. Sampel yang diduga NPM1 mutation negatif diuji setelah sampel NPM1 mutation positif tinggi dalam modul GeneXpert yang sama. Skema pengujian ini diulang 10 kali pada dua modul GeneXpert (total 22 sampel negatif dan 20 sampel positif). Semua proses sampel positif mengembalikan hasil yang diperkirakan dari “**NPM1 Mutation TERDETEKSI [###%] (NPM1 Mutation DETECTED [###%])**”, dan semua proses sampel negatif mengembalikan hasil yang diperkirakan dari “**NPM1 Mutation TIDAK TERDETEKSI [Transkrip ABL mencukupi] (NPM1 Mutation NOT DETECTED [Sufficient ABL transcript])**”.

22.5 Zat yang Berpotensi Mengganggu

Studi ini mengevaluasi lima zat yang mungkin ada dalam spesimen darah perifer EDTA yang memiliki potensi untuk mengganggu kinerja uji. Senyawa dan kadar yang diuji (lihat Tabel 6) didasarkan pada panduan dari dokumen CLSI EP07-ED3¹¹. Zat-zat pengganggu diuji dalam spesimen darah perifer EDTA yang dibuat dengan lisat dari kultur sel-sel NPM1 mutation positif, yang mewakili tiga kadar: > 1%, 0,1–0,5%, dan negatif. Kontrol uji terdiri atas sampel-sampel yang sama tanpa zat-zat yang berpotensi mengganggu. Setiap kadar diuji dengan ketiadaan dan keberadaan lima zat pengganggu terpisah dengan 4 replikat per kondisi. Suatu zat dianggap tidak mengganggu jika dengan keberadaannya, rata-rata persen rasio yang teramati berada dalam selisih 3 kali lipat jika dibandingkan dengan kontrol.

Tidak ada efek penghambatan yang signifikan secara klinis pada uji Xpert NPM1 Mutation yang teramati dengan semua zat pengganggu yang dievaluasi dalam studi ini. Tidak teramati adanya selisih yang signifikan secara statistik (nilai $p < 0,05$) dalam kondisi uji apa pun dan persen rasio yang dilaporkan antara kondisi uji dan kontrol berada dalam rentang 3 kali lipat yang dapat diterima.

Tabel 6. Zat yang Berpotensi Mengganggu Diuji Menggunakan Xpert NPM1 Mutation

Zat Pengganggu	Konsentrasi yang Diuji
Bilirubin Tidak Terkonjugasi	20 mg/dl
Kolesterol, Total	500 mg/dl
Trigliserida, Total (Lipida)	3000 mg/dl
Heparin	3500 U/L
EDTA (penarikan cepat)	930 mg/dl

23 Ketertiruan dan Presisi

Studi ini dirancang sesuai dengan prinsip-prinsip umum yang dianut pada standar CLSI EP05-A3 untuk Studi Multifaktor. Studi dilakukan di tiga lokasi. Rancangan studi ini menyertakan anggota-anggota panel sampel yang mencakup mutasi A, B, dan D pada dua konsentrasi. Tujuh anggota panel diuji dalam duplikat, dua proses per hari, dengan total 6 hari oleh masing-masing dari kedua operator di tiga lokasi berbeda (3 Lokasi x 2 Operator x 3 Lot x 2 Hari x 2 Proses x 2 Replikasi = 144 hasil uji/anggota panel). Panel ketertiruan dan presisi disiapkan oleh Cepheid dan terdiri atas tujuh anggota panel seperti ditunjukkan dalam Tabel 7. Panel-panel tersebut dibuat dalam matriks darah perifer (PB, peripheral blood) EDTA simulasi.

Tabel 7. Panel Ketertiruan dan Presisi

Anggota Panel	Target	Persen Rasio (PR) Kadar
1	Negatif	TB (NA)
2	NPM1 Mutation A	Positif Sedang (~5%)
3	NPM1 Mutation A	Positif Rendah (~0,2%)
4	NPM1 Mutation B	Positif Sedang (~5%)
5	NPM1 Mutation B	Positif Rendah (~0,2%)
6	NPM1 Mutation D	Positif Sedang (~5%)
7	NPM1 Mutation D	Positif Rendah (~0,2%)

Jumlah sampel dengan hasil valid untuk setiap anggota panel yang dianalisis oleh masing-masing dari kedua operator di tiga lokasi ditunjukkan dalam Tabel 8.

Tabel 8. Ketertiruan dan Presisi: Jumlah Sampel dengan Hasil Valid

Anggota Panel	Lokasi 1			Lokasi 2			Lokasi 3			Total Sampel
	Op 1	Op 2	Lokasi	Op 1	Op 2	Lokasi	Op 1	Op 2	Lokasi	
1 Negatif	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 (~5% rasio)	(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 (~0,2% rasio)	(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 (~5% rasio)	(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 (~0,2% rasio)	(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 (~5% rasio)	(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 (~0,2% rasio)	(24/24)	(24/24)	(48/48)	(24/24) ^c	(24/24)	(48/48) ^c	(24/24)	(24/24)	(48/48)	(144/144)

^a Dua spesimen negatif memiliki hasil yang valid tetapi terdeteksi (FP, False Positive)

^b Satu spesimen negatif memiliki hasil yang valid tetapi terdeteksi (FP, False Positive)

^c Satu spesimen LR 2.7: mut D (~0,2% rasio) memiliki hasil yang valid tetapi tidak terdeteksi (FN, False Negative)

Hasil kuantitatif dianalisis dengan analisis variansi (ANOVA) tersarang dengan efek acak dan koefisien variasi (KV). Hasil dari perhitungan ANOVA untuk simpangan baku dan variansi untuk setiap sampel positif disajikan dalam Tabel 9. Variansi dan persen total variansi yang disumbangkan oleh setiap komponen (Lokasi/Instrumen, Operator, Lot, Hari, Proses) ditunjukkan sebagai SB dan persen kontribusi dari setiap komponen.

Tabel 9. Hasil dari Koefisien Variasi (KV): Persen Rasio (PR)

Anggota Panel	N	Rata-rata	Lokasi		Op		Lot		Hari		Proses		Di Dalam Asai		Total	
			SB	KV (%)	SB	KV (%)	SB	KV (%)	SB	KV (%)	SB	KV (%)	SB	KV (%)	SB	KV (%)
LR1.3: mut A (~5% rasio)	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 (~0,2% rasio)	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 (~5% rasio)	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 (~0,2% rasio)	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 (~5% rasio)	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 (~0,2% rasio)	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 Satu sampel tidak terdeteksi oleh Xpert NPM1 dan dikecualikan dari analisis karena tidak ada pengukuran kuantitatif.

Total persen koefisien variasi (KV) dari persen rasio yang melaporkan nilai kuantitatif untuk sampel positif sedang LR1.3: mut A, mut B, dan mut D (~5% rasio) berkisar dari 21,74 hingga 26,23, dan untuk sampel positif rendah LR2.7: mut A, mut B, dan mut D (~0,2% rasio) berkisar dari 20,68 hingga 79,22.

24 Referensi

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>. Diakses 16 September 2020.
4. Kunchala P, Kuravi S, Jensen R, McQuirk 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 (lihat edisi terbaru). <http://www.cdc.gov/biosafety/publications/>
7. Clinical and Laboratory Standards Institute. Protection of Laboratory Workers from Occupationally Acquired Infections, Approved Guideline. Dokumen M29 (lihat edisi terbaru).
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 Lokasi Kantor Pusat Cepheid

Kantor Pusat Korporasi

Cepheid
904 Caribbean Drive
Sunnyvale, CA 94089
USA

Telepon: + 1 408 541 4191
Faks: + 1 408 541 4192
www.cepheid.com

Kantor Pusat Eropa

Cepheid Europe SAS
Vira Solelh
81470 Maurens-Scopont
France

Telepon: + 33 563 825 300
Faks: + 33 563 825 301
www.cepheidinternational.com

26 Bantuan Teknis

Sebelum menghubungi Dukungan Teknis Cepheid, kumpulkan informasi berikut:

- Nama produk
- Nomor Lot
- Nomor seri pada instrumen
- Pesan kesalahan (jika ada)
- Versi perangkat lunak dan, jika berlaku, Nomor Tag Servis Komputer (Computer Service Tag)

Amerika Serikat

Telepon: + 1 888 838 3222
Email: techsupport@cepheid.com

Prancis

Telepon: + 33 563 825 319
Email: support@cepheideurope.com

Informasi kontak untuk semua kantor Dukungan Teknis Cepheid tersedia di situs web kami: www.cepheid.com/en_US/support/contact-us.

27 Tabel Simbol

Simbol	Arti
	Nomor katalog
	Penandaan CE – Kesesuaian Eropa
	Perangkat medis diagnostik <i>in vitro</i>
	Kode batch
	Jangan dipakai ulang
	Baca petunjuk penggunaan
	Produsen
	Negara produsen
	Kandungan cukup untuk n uji
	Kontrol
	Tanggal kedaluwarsa
	Batasan suhu
	Risiko biologis
	Perhatian
	Cairan mudah menyala
	Toksistas reproduksi dan organ
	Peringatan
	Perwakilan resmi di Komunitas Eropa
	Perwakilan Resmi di Swiss
	Importir



Cepheid
904 Caribbean Drive
Sunnyvale, CA 94089
AS
Telepon: + 1 408 541 4191
Faks: + 1 408 541 4192



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



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



Cepheid Europe SAS
Vira Solelh
81470 Maurens-Scopont
Prancis
Telepon: + 33 563 825 300
Faks: + 33 563 825 301

28 Riwayat Revisi

Bagian	Deskripsi Perubahan
23	Perbaiki kesalahan pada bagian "Ketertiruan dan Presisi".