

# Xpert<sup>®</sup> NPM1 Mutation

**REF** GXNPM1-CE-10

Naudojimo instrukcijos

**IVD** CE

## **Prekės ženklas, patentai ir autorių teisių pareiškimai**

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

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

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

© 2022–2023 Cepheid.

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

„Cepheid“<sup>®</sup>, „Cepheid“ logotipas, „GeneXpert“<sup>®</sup> ir „Xpert“<sup>®</sup> yra „Cepheid“ prekės ženklai, registruoti JAV ir kitose šalyse. Visi kiti prekių ženklai nuosavybės teise priklauso atitinkamiems turtinių teisių turėtojams.

ŠIO PRODUKTO PIRKIMAS PIRKĖJUI SUTEIKIA NEPERDUODAMĄ TEISĘ JĮ NAUDOTI PAGAL ŠIAS NAUDOJIMO INSTRUKCIJAS. JOKIOS KITOS TEISĖS NĖRA TINKAMAI PERTEIKIAMOS AIŠKIAI, NUMANOMAI ARBA ESTOPPEL. BE TO, PERKANT ŠĮ PRODUKTĄ NESUTEIKIAMOS JOKIOS PERPARDAVIMO TEISĖS..

© „Cepheid“, 2022–2023 m.

Pakeitimų aprašą žr. Skirsnis 28 „Pakeitimų istorija“.

# Xpert<sup>®</sup> NPM1 Mutation

---

*In vitro* diagnostikai.

## 1 Patentuotas pavadinimas

Xpert<sup>®</sup> NPM1 Mutation

## 2 Bendras arba įprastas pavadinimas

Xpert NPM1 Mutation

## 3 Numatytoji paskirtis

### 3.1 Numatytasis naudojimas

Xpert NPM1 Mutation tyrimas, atliktas su „Cepheid“ GeneXpert<sup>®</sup> Dx System yra *in vitro* diagnostinis tyrimas, skirtas kiekybiškai nustatyti NPM1 mutacijos mRNR nuorašus (A, B ir D tipai 12 egzone) ūmine mieloidine leukemija (ŪML) sergančių pacientų periferinio kraujo mėginiuose. Tyrimas naudoja automatizuotą tikralaikę atvirkštinės transkripcijos polimerazės grandininę reakciją (AT-PGR) ir nurodo NPM1 mutacijų ir ABL1 endogeninės kontrolės mRNR nuorašų procentinį santykį. Tyrimas skirtas padėti stebėti pacientus, sergančius NPM1 mutavusia ŪML, nustatant NPM1 mutacijų mRNR nuorašo lygį. Tyrimas turėtų būti naudojamas kartu su kitais klinikopatologiniais veiksniais.

Xpert NPM1 Mutation tyrimas neatskiria A, B ar D tipo NPM1 mutacijų nuorašų ir neaptinka bei nestebi kitų retų NPM1 mutacijų tipų. Šis tyrimas nėra skirtas ŪML diagnozei.

### 3.2 Numatytas naudotojas / aplinka

Xpert NPM1 Mutation tyrimas skirtas apmokytiems naudotojams laboratorijoje.

## 4 Santrauka ir paaiškinimas

Ūminė mieloidinė leukemija (ŪML) yra mieloidinio kraujo hematopoetinių kamieninių ląstelių vėžys kaulų čiulpuose<sup>1,2</sup> ir žinoma, jog turi įvairių nukleofosmino (NPM1) 12 egzono mutacijų<sup>3</sup>. Nukleotidų įterpimas į 12 egzoną sukelia rėmelio poslinkio mutaciją ir sukuria branduolinio eksporto signalą (angl. nuclear export signal, NES). NPM1 geno mutacijos sukelia nenormalią NPM1 ir NPM1 sąveikaujančių baltymų citoplazminę lokalizaciją. NPM1 yra vienas labiausiai mutavusių ŪML genų, o mutacijos pasitaiko 28–35% visų ŪML atvejų. Nors šiuo metu tiriama keli vaistai, nukreipti į mutavusį NPM1, FDA patvirtintų tikslinių terapijų šiuo metu nėra.<sup>4</sup>

NPM1 genas koduoja branduolinį transportavimo baltymą, kuris turi rolę centrosomų ir ribosomų biologijoje, taip pat reguliuoja kitas ląstelių sistemas, įskaitant naviko slopinimo kelius. NPM1 yra nukleolinis fosfoproteinas, kuris tarnauja kaip transporteris tarp branduolio ir citoplazmos. Tai reguliuoja ribosominių dalelių pernešimą per branduolio membraną. NPM1 mutacijos pirmą kartą buvo aptiktos ŪML asmenims, pastebėjus nenormalią citoplazminę vietą, o ne normalią branduolinę vietą. Leukeminių blastų genetinis įvertinimas kartu su citoplazmine NPM1 vieta leido sužinoti apie žinomas 12 egzono rėmelio poslinkio mutacijas.<sup>3</sup> Dažniausios NPM1 mutacijos yra A tipo (~75–80%), B tipo (~10%) ir D tipo (~5%), visos 12 egzone, dėl ko atsiranda rėmelio poslinkio mutacija įterpus keturis nukleotidus. Dėl mutacijos, ŪML sergantiems pacientams prarandamas branduolinės lokalizacijos signalas ir stebima baltymo citoplazminė lokalizacija.<sup>5</sup>

## 5 Procedūros principas

Xpert NPM1 Mutation tyrimas yra automatizuota analizė, skirta NPM1 mutacijos nuorašų kiekiui nustatyti kaip NPM1 mutacijos / ABL1 santykį. Tyrimas atliekamas naudojant Cepheid GeneXpert Dx System, kuris automatizuoja ir integruoja mėginių gryninimą, nukleorūgščių amplifikaciją ir tikslinę sekos aptikimą paprastuose arba sudėtinguose mėginiuose, naudojant tikralaikės AT-PGR ir įdėtinės PGR analizes. Sistemą sudaro prietaisas, kompiuteris ir iš anksto įkelta programinė įranga, skirta vykdyti analizėms ir rezultatams peržiūrėti. Sistemoms reikalingos vienkartinės GeneXpert kasetės, kuriose yra AT-PGR ir įdėtiniai PGR reagentai, ir kuriose atliekami AT-PGR ir įdėtiniai PGR procesai. Norėdami gauti išsamų sistemos aprašymą, žr. atitinkamą *GeneXpert Dx System Operator Manual*.

Xpert NPM1 Mutation tyrimas apima reagentus, skirtus aptikti NPM1 mutaciją ir ABL1 nuorašą kaip endogeninę kontrolę periferinio kraujo mėginiuose. NPM1 mutacijos nuorašo kiekis kiekybiškai įvertinamas kaip NPM1 mutacijos / ABL1 procentinis santykis. Į Xpert NPM1 Mutation tyrimą įtrauktos dvi kontrolės priemonės – endogeninė kontrolė (ABL1) ir zondo patikrinimo kontrolė (ZTK). ABL1 endogeninė kontrolė normalizuoja tikslinę NPM1 mutaciją ir užtikrina, kad atliekant analizę būtų naudojama pakankamai mėginio. ZTK patikrina reagento rehidrataciją, PGR mėgintuvėlio užpildymą ir ar visi reakcijos komponentai, įskaitant zondus ir dažus, yra ir veikia kasetėje.

## 6 Reagentai ir prietaisai

### 6.1 Pateiktos medžiagos

Xpert NPM1 Mutation rinkinyje (GXNPM1-CE-10) yra pakankamai reagentų 10 mėginių analizei arba kokybės kontrolės apdorojimui. Rinkinyje yra:

#### Xpert NPM1 Mutation Reagentai

Kiekvieno po 10 rinkinyje

<b>Proteinazė K (PK)</b>	<b>10 x 130 µl mėginėlyje</b>
<b>Komponentas</b>	<b>Reagento sudedamoji dalis</b>
Proteinazė K	< 5%

<b>Lizės reagentas (LY) (guanidinio chloridas)</b>	<b>10 x 5,3 ml mėginėlyje</b>
<b>Komponentas</b>	<b>Reagento sudedamoji dalis</b>
Guanidinio chloridas	25 - 50%
Šlapalas	25 - 50%
Natrio dodecilo sulfatas	< 2%

<b>Plovimo reagentas</b>	<b>10 x 2,9 ml ampulėje</b>
<b>Komponentas</b>	<b>Reagento sudedamoji dalis</b>
Etanolis	< 50%
Guanidinio tiocianatas	< 50%

Xpert NPM1 Mutation kasetės su integruotais reakcijos mėgintuvėliais		10 viename rinkinyje
Komponentas	Reagento sudedamoji dalis	Kiekis
1 granulė (liofilizuota)	Fermentas: Taq DNR polimerazė < 50V/ granulėje	1 kiekvienoje kasetėje
	dNTPs < 0,05%	
2 granulė (liofilizuota)	Pradmenys ir zondai < 0,005%	1 kiekvienoje kasetėje
3 granulė (liofilizuota)	Pradmenys ir zondai < 0,005%	1 kiekvienoje kasetėje
4 granulė (liofilizuota)	Fermentas: Taq DNR polimerazė < 50V/ granulėje	1 kiekvienoje kasetėje
	dNTPs < 0,05%	
Skalavimo reagentas	Kalio chloridas < 4%	2 ml vienoje kasetėje
	Natrio azidas < 0,1%	
	Polietilenglikolis < 40%	
	„Tween-20“ < 0,2%	
Išplovimo reagentas	„Trizma“ bazė < 0,3%	2,5 ml vienoje kasetėje
	Trizma hidrochloridas < 0,1%	
	Natrio azidas < 0,05%	

**Kompaktinis diskas (CD)****1 viename rinkinyje**

- Analizės apibrėžimo failas (AAF)
- Nurodymas perkelti AAF į „GeneXpert“ programinę įrangą
- Naudojimo instrukcijos

**Pastaba** Galvijų serumo albuminas (GSA) šio produkto granulėse buvo gaminamas tik iš JAV gaunamos galvijų plazmos. Atrajojančių gyvūnų baltymai ar kiti gyvūniniai baltymai nebuvo šeriami gyvūnams; gyvūnams buvo atliekamas priešmirtinis ir pomirtinis tyrimas. Apdorojant medžiaga nebuvo maišoma su kitomis gyvūninėmis medžiagomis.

**Pastaba** Analizės sertifikatus ir partijos specifikacijų duomenų lapus galite gauti iš „Cepheid“ techninės pagalbos.

## 7 Reikalingos, bet nepateikiamos medžiagos

- GeneXpert Dx System (katalogo numeris priklauso nuo konfigūracijos): GeneXpert prietaisas, kompiuteris, brūkšnių kodų skaitytuvas ir operatoriaus vadovas.
- GeneXpert Dx System: GeneXpert Dx programinės įrangos versija 6.2 arba naujesnė.
- Spausdintuvas: Jeigu reikia spausdintuvo, susisiekite su „Cepheid“ technine pagalba ir susitarkite dėl rekomenduojamo spausdintuvo pirkimo.
- Maišytuvas
- Mikrocentrifuga (mažiausiai 1000 x g)
- Pipetės ir aerosolinių filtrų pipetės antgaliai
- 50 ml kūginiai mėgintuvėliai
- Reagento klasės absoliutus etanolis
- 1X PBS, pH 7,4

## 8 Laikymas ir naudojimas

- Xpert NPM1 Mutation rinkinio turinį laikykite 2–8 °C temperatūroje iki etiketėje nurodyto galiojimo laiko.
- Neatidarykite kasetės dangtelio, kol nebūsėte pasirengę atlikti tyrimą.

- Nenaudokite kasečių, kurių galiojimo laikas yra pasibaigęs.
- Nenaudokite pratekėjusios kasetės.
- Plovimo reagentas yra skaidrus, bespalvis skystis. Nenaudokite drumstų ar pakitusios spalvos plovimo reagentų.
- Dvidešimt (20) minučių prieš pradėdami procedūrą išimkite kraujo mėginį, mėginio paruošimo reagentus ir kasetę iš laikymo vietos, kad jie sušiltų iki kambario temperatūros (20–30 °C).

## 9 Įspėjimai ir atsargumo priemonės

### 9.1 Bendra

- *In vitro* diagnostikai.
- Visus biologinius mėginius, įskaitant panaudotas kasetes ir reagentus, tvarkykite taip, lyg jie galėtų perduoti infekcinijos sukėlėjus. Dažnai neįmanoma žinoti, kuris mėginys gali būti infekcinis, todėl visi biologiniai mėginiai turėtų būti tvarkomi laikantis standartinių atsargumo priemonių.
- Mėginių naudojimo gairės prieinamos iš JAV ligų kontrolės ir prevencijos centruose<sup>6</sup> bei Klinikinių ir laboratorinių standartų institute (angl. Clinical and Laboratory Standards Institute, CLSI).<sup>7</sup>
- Dirbdami su chemikalais ir naudodami biologinius mėginius, laikykitės savo įstaigos saugos procedūrų.
- Šio tyrimo veiksmingumas buvo nustatytas tik kraujui, surinktam EDTA mėgintuvėliuose. Analizės funkcija nebuvo įvertinta su kitais mėginių tipais.
- Patikimi rezultatai priklauso nuo tinkamo mėginių surinkimo, transportavimo, laikymo ir apdorojimo. Klaidingi analizės rezultatai gali būti netinkamo mėginio surinkimo, naudojimo ar laikymo, techninės klaidos, mėginių sumaišymo atveju arba dėl to, kad tikslinio nuorašo mėginyje yra mažiau nei analizės aptikimo riba. Norint išvengti klaidingų rezultatų, būtina atidžiai laikytis šių naudojimo instrukcijų ir *GeneXpert Dx System Operator Manual*.
- Atlikus Xpert NPM1 Mutation tyrimą už rekomenduojamą rinkinio ar mėginio laikymo laiko ir temperatūros ribų, rezultatai gali būti klaidingi arba negaliojantys.
- Turėtų būti laikoma, kad biologiniai mėginiai, perkėlimo priemonės ir panaudotos kasetės gali perduoti infekcijos sukėlėjus, reikalaujančius standartinių atsargumo priemonių. Laikykitės savo įstaigos aplinkos atliekų tvarkymo procedūrų tinkamam panaudotų kasečių ir nepanaudotų reagentų šalinimui. Šioms medžiagoms gali būti būdingos pavojingų cheminių atliekų savybės, dėl kurių reikia specialių nacionalinių ar regioninių šalinimo procedūrų. Jeigu nacionaliniuose arba regionų teisės aktuose nėra aiškių nurodymų tinkamam šalinimui, biologinius mėginius ir panaudotas kasetes reikia šalinti pagal PSO [Pasaulio sveikatos organizacijos] medicininių atliekų naudojimo ir šalinimo rekomendacijas.<sup>8</sup>

### 9.2 Mėginys

- Išlaikykite tinkamas laikymo sąlygas, kad būtų užtikrintas mėginio vientisumas (žr. Skirsnis 11, „Mėginių surinkimas ir laikymas“). Mėginio stabilumas kitomis nei rekomenduojamomis transportavimo sąlygomis nebuvo įvertintas.
- Neužšaldykite EDTA periferinio kraujo mėginio.
- Tinkamas mėginių surinkimas, laikymas ir transportavimas yra būtini norint gauti teisingus rezultatus.


### 9.3 Tyrimas / reagentas

- Nekeiskite Xpert NPM1 Mutation reagentų kitais reagentais.
- Neatidarykite Xpert NPM1 Mutation kasetės dangtelio, išskyrus tuos atvejus, kai pilate mėginį ir plovimo reagentą.
- Nenaudokite kasetės, kuri buvo numesta išėjus ją iš pakuotės.
- Nekratykite kasetės. Pakračius arba numetus kasetę atidarius kasetės dangtelį, rezultatai gali būti netinkami.
- Nedėkite mėginio ID etiketės ant kasetės dangtelio ar kasetės brūkšninio kodo etiketės.
- Nenaudokite kasetės su pažeista brūkšninio kodo etikete.
- Nenaudokite kasetės su pažeistu reakcijos mėgintuvėliu.
- Rekomenduojama, kad Xpert NPM1 Mutation kasetės būtų kambario temperatūros (nuo 20 °C iki 30 °C), kai jos naudojamos tyrimui.
- Kiekviena vienkartinė Xpert NPM1 Mutation kasetė naudojama vienai analizei atlikti. Pakartotinai nenaudokite apdorotų kasečių.
- Perkelkite visą vienos (1) plovimo reagento ampulės turinį į plovimo reagento kamerą. Trūkstam plovimo reagento, gali būti gautas klaidingas **NEAPTIKTA (NOT DETECTED)** rezultatas.

- Nenaudokite panaudotų pipetės antgalių.
- Nenaudokite kasetės, jei ji atrodo drėgna arba atrodo, kad dangtelio tarpiklis buvo pažeistas.
- Nenaudokite Xpert NPM1 Mutation kasetės, jei reagentas įpiltas į netinkamą angą.
- Neatidarykite Xpert NPM1 Mutation kasetės pasibaigus analizei.
- Atskirą pipetę ir reagentų rinkinį skirkite tik mėginio paruošimui.
- Dėvėkite švarius laboratorinius chalatus ir pirštines. Pakeiskite pirštines po kiekvieno mėginio naudojimo.
- Jei mėginiai ar kontrolės išsilieja, mūvėkite pirštines ir sugerkite išsiliejusį turinį popieriniu rankšluosčiu. Tada kruopščiai nuvalykite užterštą vietą 1:10 praskiestu šviežiai paruoštu buitiniu chloro balikliu. Galutinė aktyviojo chloro koncentracija turėtų būti 0,5%, neatsižvelgiant į naudojamų buitinių baliklių koncentraciją jūsų šalyje. Skirkite mažiausiai dvi minutes kontakto.
- Prieš naudodami 70% denatūruotą etanolį baliklio likučiams pašalinti, įsitikinkite, kad darbo vieta yra sausa. Prieš tęsdami leiskite paviršiui visiškai išdžiūti. Arba laikykitės standartinių savo įstaigos procedūrų užteršimo ar išsiliejimo atveju. Įrangai vadovaukitės gamintojo rekomendacijomis dėl nuklenksminimo.

## 10 Cheminiai pavojai

**Pastaba** Toliau pateikta informacija taikoma visam produktui, kuriame yra proteinizės K, lizės, plovimo ir skalavimo reagentų.

- CLP/GHS pavojingumo piktograma: 
- Signalinis žodis: PAVOJINGA
- **JT GHS pavojingumo frazės**
  - Labai degūs skystis ir garai H225.
  - Dirgina odą H315.
  - Sukelia smarkų akių dirginimą H319.
  - Gali sukelti mieguistumą arba galvos svaigimą H336.
  - Įtariama, kad gali sukelti genetinius defektus H341.
- **JT GHS atsargumo frazės**
  - **Prevencija**
    - Prieš naudodami specialias instrukcijas žiūrėkite saugos duomenų lapę.
    - Prieš naudojimą gauti specialias instrukcijas.
    - Nenaudoti, jeigu neperskaityti ar nesuprasti visi saugos įspėjimai.
    - Laikyti atokiau nuo šilumos šaltinių, žiežirbų, atviros liepsnos ir (arba) karštų paviršių. Nerūkyti.
    - Talpyklą laikyti sandariai uždarytą.
    - Stengtis neįkvėpti rūko / garų / aerosolio.
    - Po naudojimo kruopščiai nuplauti.
    - Naudoti tik lauke arba gerai vėdinamoje patalpoje.
    - Mūvėti apsaugines pirštines/dėvėti apsauginius drabužius/naudoti akių (veido) apsaugos priemones.
    - Naudoti reikalaujamas asmenines apsaugos priemones.
  - **Reakcija**
    - GAISRO atveju: gesinimui naudoti tinkamas terpes.
    - ĮKVĖPUS: Išnešti nukentėjusįjį į gryną orą; jam būtina ramybė ir padėtis, leidžianti laisvai kvėpuoti.
    - Pasijutus blogai, skambinti į APSINUODIJIMŲ KONTROLĖS IR INFORMACIJOS BIURĄ arba kreiptis į gydytoją.
    - PATEKUS ANT ODOS (arba plaukų): Nedelsiant nuvilkti visus užterštus drabužius. Odą nuplauti vandeniu/čiurkšle.
    - Specifinis gydymas, žr. papildomą pirmosios pagalbos informaciją.
    - Nusivilkti užterštus drabužius ir išskalbti prieš vėl juos apsivelkant.
    - Jeigu sudirginama oda: Kreiptis į gydytoją.
    - PATEKUS Į AKIS: Kelias minutes atsargiai plauti vandeniu. Išimti kontaktinius lęšius, jeigu jie yra ir jeigu lengvai galima tai padaryti. Toliau plauti akis.
    - Jei akių dirginimas nepraeina: Kreiptis į gydytoją.
    - Esant sąlyčiui arba jeigu numanomas sąlytis: Kreiptis į gydytoją.
  - **Laikymas / šalinimas**

- Laikyti vėsioje vietoje.
- Laikyti gerai vėdinamoje vietoje.
- Talpyklą laikyti sandariai uždarytą.
- Laikyti užrakintą.
- Turinį ir (arba) talpyklą šalinkite laikydamiesi vietos, regionų, nacionalinių ir (arba) tarptautinių teisės aktų.

## 11 Mėginių surinkimas ir laikymas

- Periferinio kraujo mėginiai turi būti surenkami į EDTA mėgintuvėlius, laikantis jūsų įstaigos nurodymų. Plazma neturėtų būti atskirta nuo ląstelių.
- Mėginiai turi būti laikomi nuo 2 °C iki 8 °C ne ilgiau kaip 3 dienas (72 valandas) prieš tyrimą.
- Tinkamas mėginių surinkimas ir laikymas yra labai svarbūs šios analizės veikimui. Mėginio stabilumas kitomis nei išvardytais Skirsnis 12, „Procedūra“ laikymo sąlygomis toliau, nebuvo įvertintas Xpert NPM1 Mutation tyrimu.

## 12 Procedūra

### 12.1 Prieš pradėdant

Dvidešimt (20) minučių prieš pradėdant procedūrą išimkite kraujo mėginį, mėginio paruošimo reagentus ir kasetes iš šaldymo kameros, kad jie sušiltų iki kambario temperatūros. Trumpai pasukite proteinazę K (PK) mikrocentrifugoje.

#### Svarbi informacija

---

Pradėkite analizę per 1 valandą nuo mėginio reagentu apdoroto mėginio įdėjimo į kasetę.

---

#### Svarbi informacija

---

Išimkite kasetę iš kartoninės pakuotės prieš mėginio paruošimą. (Žr. Skirsnis 12.3, „Kasetės paruošimas“).

---

### 12.2 Mėginio paruošimas

#### 12.2.1 Mėginio su nežinomu baltųjų kraujo kūnelių (BKK) skaičiumi arba mėginių, kuriuose yra mažiau nei 30 mln. leukocitų/ml, paruošimas

1. Į naujo 50 ml kūginio mėgintuvėlio dugną įpilkite 100 µl proteinazės K (PK).
2. Užtikrinkite, kad kraujo mėginys būtų gerai sumaišytas, prieš pat pipetavimą apversdami kraujo surinkimo mėgintuvėlį 8 kartus. Žr. gamintojo instrukcijas dėl EDTA kraujo surinkimo mėgintuvėlio.
3. Į mėgintuvėlį, kuriame jau yra PK, įpilkite 4 ml kraujo mėginio.
4. Nepertraukiamai 3 sekundes maišykite mėginį maišytuvu maksimaliu nustatymu.
5. Inkubuokite kambario temperatūroje 1 minutę.
6. Į tą patį mėgintuvėlį įpilkite 2,5 ml lizės reagento (LR).

#### Pastaba

---

Lizės reagento likučius išsaugokite, kad galėtumėte vėl naudoti 13-ame veiksmo.

---

7. Nepertraukiamai 10 sekundžių maišykite mėginį maišytuvu maksimaliu nustatymu.
8. Inkubuokite kambario temperatūroje 5 minutes.
9. Nepertraukiamai 10 sekundžių maišykite mėginį maišytuvu maksimaliu nustatymu.
10. Inkubuokite kambario temperatūroje 5 minutes.
11. Mėginį sumaišykite 10 kartų bakstelėdami į mėgintuvėlio dugną.
12. Perkelkite 1 ml paruošto lizato į naują, pažymėtą 50 ml kūginį mėgintuvėlį.

#### Pastaba

---

Likęs lizatas gali būti laikomas 2–8 °C temperatūroje iki 48 valandų arba –20 °C ar žemesnėje temperatūroje iki 1 mėnesio.

---

13. Į naują kūginį mėgintuvėlį, kuriame yra lizatas, įpilkite 1,5 ml likusio lizės reagento (LY) iš 6-to veiksmo.
14. Nepertraukiamai 10 sekundžių maišykite mėginį maišytuvu maksimaliu nustatymu.
15. Inkubuokite kambario temperatūroje 10 minučių.



16. Į tą patį kūginį mėgintuvėlį įpilkite 2 ml reagento klasės absoliutaus etanolio (pateikia naudotojas).
17. Nepertraukiamai 10 sekundžių maišykite mėginį maišytuvu maksimaliu nustatymu. Padėkite į šalį.
18. Išmeskite likusius PK arba LR reagentus.

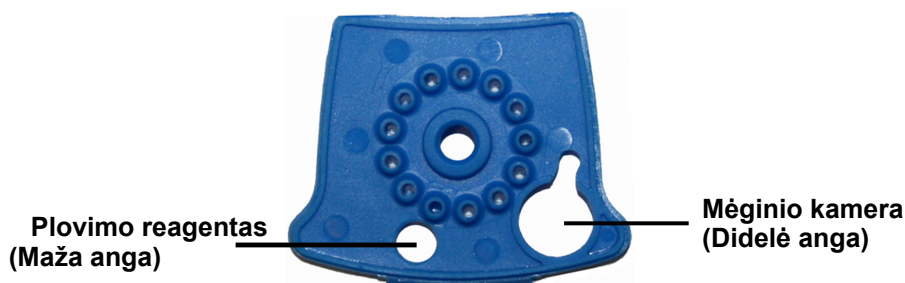
### 12.2.2 Mėginio paruošimas su baltųjų kraujo kūnelių skaičiumi, lygiu 30 milijonų leukocitų/ml arba daugiau

1. Į naujo 50 ml kūginio mėgintuvėlio dugną įpilkite 100 µl PK.
2. Užtikrinkite, kad kraujo mėginys būtų gerai sumaišytas, prieš pat pipetavimą apversdami kraujo surinkimo mėgintuvėlį 8 kartus. Žr. gamintojo instrukcijas dėl EDTA kraujo surinkimo mėgintuvėlio.
3. Į mėgintuvėlį, kuriame jau yra PK, įpilkite 250 µl kraujo mėginio ir 3,75 ml 1xPBS (pH 7,4, pateikia naudotojas).
4. Nepertraukiamai 3 sekundes maišykite mėginį maišytuvu maksimaliu nustatymu.
5. Inkubuokite kambario temperatūroje 1 minutę.
6. Atlikite 6–17 veiksmus iš Skirsnis 12.2.1, kad pasidarytumėte galutinį lizatą.
7. Išmeskite likusius PK arba LR reagentus.

## 12.3 Kasetės paruošimas

Mėginio įdėjimas į Xpert NPM1 Mutation kasetę:

1. Išimkite kasetę iš kartoninės pakuotės.
2. Įsitinkite, kad kasetė nepažeista. Nenaudokite, jeigu pažeista.
3. Atidarykite kasetę pakeldami kasetės dangtelį ir perkeltkite visą plovimo reagento vienos (1) ampulės turinį į plovimo reagento kamerą (su maža anga). Žr. pav. 1.
4. Pipete supilkite visą paruošto mėginio turinį (4,5 ml) į mėginio kamerą (didelė anga). Žr. pav. 1.



pav. 1. Xpert NPM1 Mutation Kasetė (vaizdas iš viršaus)

5. Uždarykite kasetės dangtelį. Įsitinkite, kad dangtelis tvirtai užsifiksuoja. Pradėkite analizę (žr. Skirsnis 12.4, „Analizės pradėjimas“).

## 12.4 Analizės pradėjimas

### Svarbi informacija

Prieš pradėdami analizę įsitinkite, kad sistemoje veikia GeneXpert Dx programinės įrangos 6.2 arba naujesnė versija ir ar į programinę įrangą yra importuotas teisingas analizės apibrėžimo failas. Šiame skyriuje pateikiami numatytieji GeneXpert Dx System sistemos naudojimo veiksmai.

### Pastaba

Atlikti veiksmai gali būti skirtingi, jei sistemos administratorius pakeitė numatytąją sistemos darbo eigą.

1. Įjunkite GeneXpert sistemą pirmiausia įjungdami GeneXpert Dx prietaisą ir tada įjungiant kompiuterį. Programinė įranga GeneXpert Dx bus paleista automatiškai arba gali reikėti dukart spustelėti programinės įrangos GeneXpert Dx nuorodos piktogramą „Windows®“ darbalaukyje.
2. Prisijunkite prie GeneXpert programinės įrangos naudodami savo vartotojo vardą ir slaptažodį.
3. Lange „GeneXpert“ Sistema (GeneXpert System) spustelėkite **Kurti tyrimą (Create Test)** (GeneXpert Dx). Atsidaro langas **Kurti tyrimą (Create Test)**.
4. Nuskaitykite arba įveskite paciento ID (Patient ID). Jeigu įvedate paciento ID (Patient ID), įsitinkite, kad paciento ID (Patient ID) įvestas teisingai. Paciento ID (Patient ID) susietas su tyrimo rezultatais ir rodomas lange **Peržiūrėti rezultatus (View Results)** ir visose ataskaitose. Pasirodys dialogo langas **Nuskaityti mėginio ID brūkšninį kodą (Scan Sample ID Barcode)**.

5. Nuskaitykite arba įveskite mėginio ID (Sample ID). Jeigu įvedate mėginio ID (Sample ID), įsitikinkite, kad mėginio ID (Sample ID) įvestas teisingai. Mėginio ID (Sample ID) rodomas kairėje lango „**Peržiūrėti rezultatus**“ (**View Results**) ir visų ataskaitų pusėje. Pasirodys dialogo langas **Nuskaityti kasetės brūkšninį kodą (Scan Cartridge Barcode)**.
6. Nuskaitykite brūkšninį kodą ant Xpert NPM1 Mutation kasetės. Naudojant brūkšninio kodo informaciją, programinė įranga automatiškai užpildo šių laukelių langelius: „Reagento partijos ID“ (Reagent Lot ID), „Kasetės SN“ (Cartridge SN) ir „Galiojimo pabaigos data“ (Expiration Date).

**Pastaba**

Jeigu brūkšninis kodas ant Xpert NPM1 Mutation kasetės nenuskaitomas, pakartokite analizę naudodami naują kasetę. Jeigu programinėje įrangoje nuskaitėte kasetės brūkšninį kodą ir analizės apibrėžimo failo nėra, pasirodys ekranas, rodantis, kad analizės apibrėžimo failas nėra įkeltas į sistemą. Jeigu pasirodys šis ekranas, susisiekite su „Cepheid“ technine pagalba.

7. Spustelėkite **Pradėti tyrimą („Start Test“)**. Pasirodžiusiame dialogo lange gali tekti įvesti slaptažodį.
8. Atidarykite prietaiso modulio dureles mirksint žaliai lemputei ir įdėkite kasetę.
9. Uždarykite dureles. Tyrimas prasideda ir žalia lemputė nustoja mirksėti. Baigus analizę, lemputė išsijungia.
10. Prieš atidarydami modulio dureles ir išimdami kasetę, palaukite, kol sistema atleis durelių užraktą.
11. Panaudotas kasetes šalinkite į atitinkamas mėginių atliekų talpyklas pagal jūsų įstaigos standartinę praktiką.

**Pastaba**

Laikas iki rezultato yra trumpesnis nei 3 valandos (apytiksliai 30 minučių išoriniam mėginio paruošimui ir mažiau nei 2,5 valandos analizės vykdymo trukmei).

## 13 Rezultatų peržiūra ir spausdinimas

Šiame skyriuje pateikiami pagrindiniai rezultatų peržiūros ir spausdinimo veiksmai. Išsamesnes instrukcijas, kaip peržiūrėti ir spausdinti rezultatus, rasite *GeneXpert Dx System Operator Manual*.

- Rezultatams peržiūrėti spustelėkite piktogramą **Peržiūrėti rezultatus (View Results)**.
- Baigę analizę, spustelėkite mygtuką **Ataskaita (Report)** lange **Peržiūrėti rezultatus (View Results)** PDF ataskaitos failui peržiūrėti ir (arba) sugeneruoti.

## 14 Kokybės kontrolė

Kiekviena kasetė apima ABL1 endogeninę kontrolę ir zondo patikrinimo kontrolę (ZTK).

**ABL1 endogeninė kontrolė** — ABL1 endogeninė kontrolė patikrina, ar atliekant analizę buvo panaudota pakankamai mėginio. Be to, ši kontrolė nustato su mėginiu susijusį tikrą laikės PGR analizės slopinimą. ABL1 tinkama, jei atitinka paskirtus priėmimo kriterijus.

**Zondo patikrinimo kontrolė (ZTK)** - prieš prasidedant PGR reakcijai, GeneXpert sistema matuoja fluorescencijos signalą iš zondų, kad būtų galima stebėti granulių rehidraciją, reakcijos mėgintuvėlio užpildymą, ir ar visi reakcijos komponentai veikia kasetėje. ZTK tinkama, jei atitinka paskirtus priėmimo kriterijus.

## 15 Rezultatų interpretavimas

Rezultatus GeneXpert sistema interpretuoja automatiškai pagal išmatuotus fluorescencinius signalus ir įdėtuosius skaičiavimo algoritmus ir jie rodomi lange „Peržiūrėti rezultatus“ (View Results). Galimi rezultatai ir interpretavimas pavaizduoti lentelė 1.

lentelė 1. Xpert NPM1 Mutation tyrimų rezultatai ir interpretavimas

Rezultatas	Interpretavimas
<b>NPM1 mutacija APTIKTA (NPM1 Mutation DETECTED)</b> Žr pav. 2, pav. 3, pav. 4	Buvo aptiktas NPM1 mutacijos nuorašas. <ul style="list-style-type: none"> <li>NPM1 mutacija APTIKTA (NPM1 Mutation DETECTED) – buvo aptiktas NPM1 mutacijos nuorašas, jo slenkstinis ciklas (angl. cycle threshold, Ct) yra tinkamame diapazone, o baigties taškas viršija minimalią nuostatą.</li> <li>Galimi aptikti rezultatai:               <ul style="list-style-type: none"> <li>NPM1 MUTACIJA APTIKTA [#,###%] (NPM1 Mutation DETECTED [#,###%]); pav. 2.</li> <li>NPM1 MUTACIJA APTIKTA [daugiau nei viršutinė KIR] (NPM1 MUTATION DETECTED [Above upper LoQ]); pav. 3.</li> <li>NPM1 MUTACIJA APTIKTA [mažiau AR; &lt;#,###%] (NPM1 MUTATION DETECTED [Below LoD; #,###%]); pav. 4.</li> </ul> </li> <li>ABL TINKAMAS (PASS) – buvo aptiktas ABL nuorašas, jo slenkstinis ciklas (Ct) yra tinkamame diapazone, o baigties taškas viršija minimalią nuostatą.</li> <li>Zondo patikrinimas TINKAMAS (PASS) - visi zondo patikrų rezultatai teigiami.</li> </ul>
<b>NPM1 mutacija NEAPTIKTA (NPM1 Mutation NOT DETECTED)</b> Žr. pav. 5	Buvo neaptiktas NPM1 mutacijos nuorašas. <ul style="list-style-type: none"> <li>NPM1 mutacija NEAPTIKTA [pakankamas ABL nuorašas] (NPM1 Mutation NOT DETECTED [Sufficient ABL transcript]) – buvo neaptiktas NPM1 mutacijos nuorašas, jo slenkstinis ciklas (Ct) yra lygus nuliui arba daugiau nei tinkamas diapazonas, ir (arba) baigties taškas nesiekė minimalios nuostatos.</li> <li>ABL TINKAMAS (PASS) – buvo aptiktas ABL nuorašas, jo slenkstinis ciklas (Ct) yra tinkamame diapazone, o baigties taškas viršija minimalią nuostatą.</li> <li>Zondo patikrinimas TINKAMAS (PASS) - visi zondo patikrų rezultatai teigiami.</li> </ul>
<b>NETINKAMAS (INVALID)</b> Žr pav. 6, pav. 7, pav. 8, pav. 9, pav. 10	NPM1 mutacijos nuorašo lygio negalima nustatyti, nes mėginyje yra perteklinis NPM1 mutacijos nuorašas ir (arba) perteklinis arba nepakankamas ABL nuorašas. Žr. Skirsnis 18, „Trikčių šalinimo vadovas“, papildomoms instrukcijoms, kaip pakartotinai ištirti mėginį. <ul style="list-style-type: none"> <li>NPM1 mutacija NEGALIOJANTI (NPM1 Mutation INVALID) – NPM1 slenkstinis ciklas (Ct) buvo virš nulinio ir žemiau apatinės tinkamo diapazono ribos ( pav. 8, pav. 9)</li> <li>ABL NEPAVYKO (FAIL) - ABL slenkstinis ciklas (Ct) nebuvo tinkamame diapazone arba baigties taškas buvo žemesnis už minimalią nuostatą ( pav. 6, pav. 7, pav. 8, pav. 10)</li> <li>Zondo patikrinimas – TINKAMAS (PASS); visi zondo patikrų rezultatai teigiami.</li> </ul>
<b>KLAIDA (ERROR)</b> Žr. pav. 11	NPM1 mutacijos nuorašo lygio nustatyti negalima. Žr. Skirsnis 18, „Trikčių šalinimo vadovas“, papildomoms instrukcijoms, kaip pakartotinai ištirti mėginį. <ul style="list-style-type: none"> <li>NPM1 mutacija REZULTATO NĖRA (NO RESULT)</li> <li>ABL REZULTATO NĖRA (NO RESULT)</li> <li>Zondo patikrinimas NEPAVYKO (FAIL) - visi arba vienas iš zondo patikrinimo rezultatų nepavyko.</li> <li>Zondo patikrinimas TINKAMAS (PASS) arba NA (NA) (netaikoma) ir slėgio nutraukimas (Pressure Abort)*.</li> </ul> *Jei zondo patikrinimas tinkamas, klaida atsirado dėl maksimalaus slėgio ribos, viršijančios leistiną diapazoną, arba dėl sistemos komponento gedimo.
<b>REZULTATO NĖRA (NO RESULT)</b>	NPM1 mutacijos nuorašo lygio nustatyti negalima. Surinkta nepakankama duomenų analizės rezultatui gauti. Pavyzdžiui, taip gali atsitikti operatoriui sustabdžius vykstančią analizę. Žr. Skirsnis 18, „Trikčių šalinimo vadovas“, papildomoms instrukcijoms, kaip pakartotinai ištirti mėginius. <ul style="list-style-type: none"> <li>NPM1 mutacija REZULTATO NĖRA (NO RESULT)</li> <li>ABL REZULTATO NĖRA (NO RESULT)</li> <li>Zondo patikrinimas NA (NA) (netaikoma)</li> </ul>

## 16 Kiekybiniai rezultatai

Xpert NPM1 Mutation kiekybiniai rezultatai pateikiami kaip procentinis NPM1 mutacijos/ABL1 santykis. Rinkiniams priskiriamos konkrečios partijos efektyvumo ( $E_{\Delta Ct}$ ) ir masto koeficiento (MK) reikšmės, kurios susieja kiekybinį įvertinimą NPM1 mutacijos (A, B ir D) ir ABL1 nuorašus su kopijų numeriais iš sintetinės NPM1 mutacijos ir ABL1 *in vitro* nurašytos RNR (IVT-RNR) pirminių standartų.

I lentelė 2. Xpert NPM1 Mutation tyrimo rezultatų pavyzdžiai

Analizės metodas	NPM1 mutacija		ABL		Xpert NPM1 Mutation Tyrimo rezultatai	Pastabos
	Ct	Rezultatas <sup>a</sup>	Ct	Rezultatas <sup>a</sup>		
1	5,2	NETINKAMAS (INVALID)	5,8	NEPAVYKO (FAIL)	NEGALIOJANTIS [per daug NPM1 mutacijos ir ABL nuorašų] (INVALID [Too high NPM1 Mutation and ABL transcripts])	NA (NA)
2	9	NETINKAMAS (INVALID)	5,5	NEPAVYKO (FAIL)	NEGALIOJANTIS [per daug ABL nuorašų] (INVALID [Too high ABL transcripts])	NA (NA)
3	5,5	NETINKAMAS (INVALID)	8,5	TINKAMAS (PASS)	NEGALIOJANTIS [per daug NPM1 mutacijos nuorašų] (INVALID [Too high NPM1 Mutation transcripts])	NA (NA)
4	25,0	NETINKAMAS (INVALID)	21,8	NEPAVYKO (FAIL)	NEGALIOJANTIS [nepakankamas ABL nuorašas] (INVALID [Insufficient ABL transcript])	NA (NA)
5	0	NETINKAMAS (INVALID)	0	NEPAVYKO (FAIL)	NEGALIOJANTIS [nėra ABL nuorašo] (INVALID [No ABL transcript])	NA (NA)
6	8,5	TEIG. (POS)	13,6	TINKAMAS (PASS)	NPM1 mutacija APTIKTA [daugiau nei viršutinė KIR] (NPM1 Mutation DETECTED [Above upper LoQ])	NA (NA)
7	22,5	TEIG. (POS)	14,8	TINKAMAS (PASS)	NPM1 mutacija APTIKTA [1,05%] (NPM1 Mutation DETECTED [1.05%])	Nurodoma vertė: 1,05%
8	27,9	TEIG. (POS)	14,0	TINKAMAS (PASS)	NPM1 MUTACIJA APTIKTA [mažiau AR; <0,030%] (NPM1 Mutation DETECTED [Below LoD; 0.030%])	NA (NA)
9	0	NEIG. (NEG)	14,6	TINKAMAS (PASS)	NEIGIAMA [pakankamas ABL nuorašas] (NEGATIVE [Sufficient ABL transcript])	NA (NA)
10	0	REZULTATO NĖRA (NO RESULT)	0	REZULTATO NĖRA (NO RESULT)	KLAIDA (ERROR)	Pavyzdžiui, Klaida 5017 [ABL] zondo patikrinimas nepavyko

<sup>a</sup> Norėdami gauti daugiau informacijos, žr. „GeneXpert Dx“ sistemos programinės įrangos skirtuką „Analitės rezultatai (Analyte Results)“.

## 16.1 NPM1 mutacija APTIKTA [#,##]% (NPM1 Mutation DETECTED [#,##]%)

NPM1 mutacija buvo aptikta lygyje #.##%.

Jei rezultatas yra „NPM1 mutacija APTIKTA [#,##%] (NPM1 Mutation DETECTED [#,##%])“, NPM1 mutacija aptinkama, kai NPM1 mutacijos Ct yra didesnis arba lygus „6“ ir mažesnis arba lygus „32“, o ABL Ct yra didesnis arba lygus „6“ ir mažesnis arba lygus „20“. GeneXpert programinė įranga apskaičiuoja %, naudodama šią lygtį, kur Delta Ct ( $\Delta Ct$ ) vertė gaunama iš ABL Ct atėmus NPM1 mutacijos Ct:

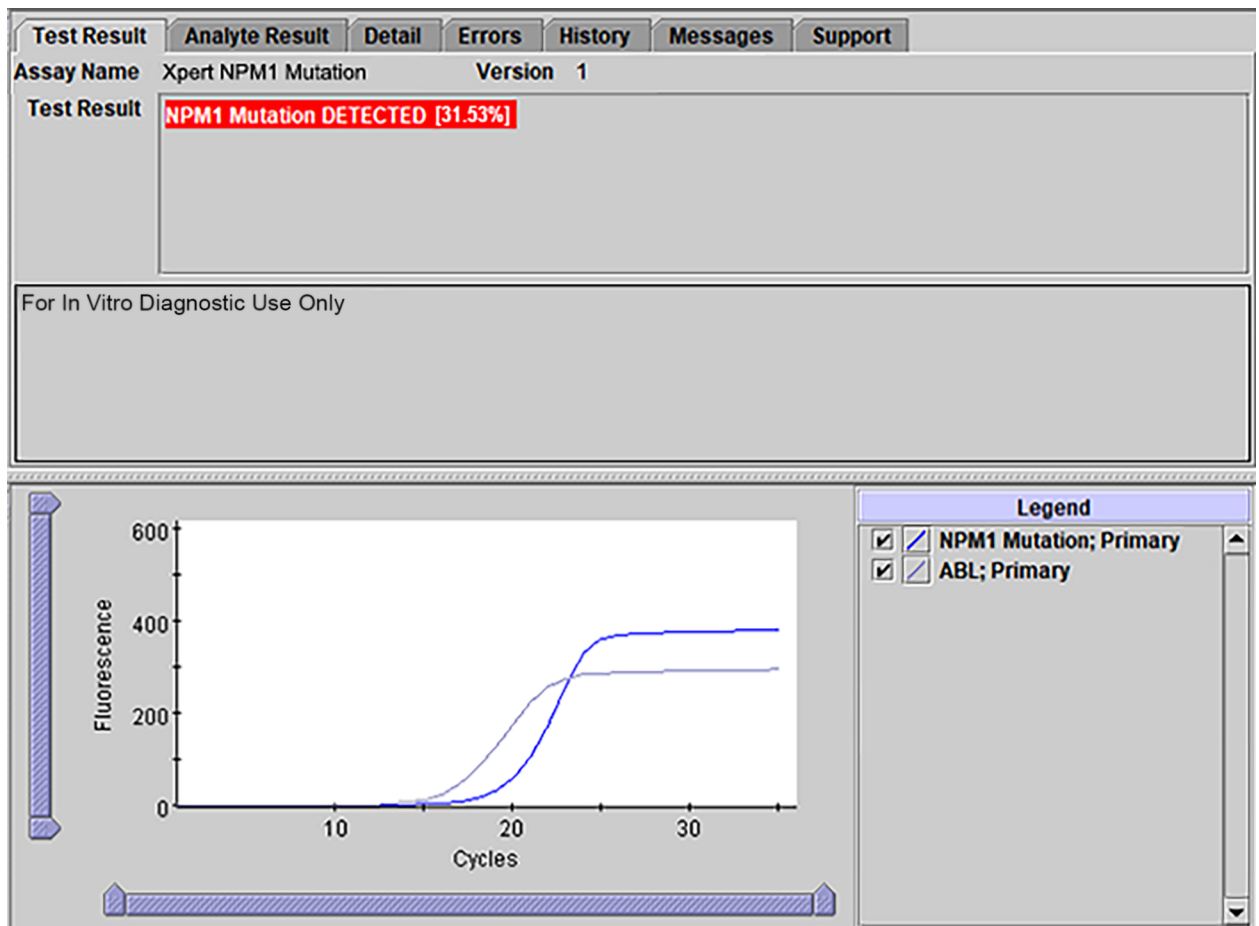
$$\% = E_{\Delta Ct}^{\Delta Ct} \times 100 \times \text{masto koeficientas}$$

### Pastaba

Masto koeficientas (*MK*) yra konkrečios partijos parametras, įterptas į analizės kasetės brūkšninį kodą. Šio koeficiento reikšmė ir konkrečios partijos analizės efektyvumas ( $E_{\Delta Ct}$ ) nustatomi atliekant kiekvienos analizės partijos kokybės kontrolės tyrimus, naudojant pirminius standartus, kalibruotus pagal kopijų numerius iš sintetinės NPM1 mutacijos ir ABL1 *in vitro* nuorašų RNR (IVT-RNR) kalibratorius skirtus NPM1 mutacijos nuorašų kiekybiniam įvertinimui.  $E_{\Delta Ct}$  yra nustatytas 1,95 ir *MK* vertė nustatyta 1,79 čia pateikiamo pavyzdžio naudojimui.

**Pavyzdys:** Konkrečios partijos  $E_{\Delta Ct} = 1,95$ ; *MK* = 1,79  
 Analizės ABL Ct = 14,5; NPM1 mutacijos Ct = 17,1;  $\Delta Ct = -2,6$   
 $\% = 1,95^{(-2,6)} \times 100 \times 1,79 = 31,53\%$

**Rezultatas:** NPM1 mutacija APTIKTA [31,53%] (NPM1 Mutation DETECTED [31.53%]). Žr. pav. 2.



pav. 2. GeneXpert Dx langas „Peržiūrėti rezultatus“: NPM1 mutacija APTIKTA [31,53%] (NPM1 Mutation DETECTED [31.53%])

## 16.2 NPM1 mutacija APTIKTA [daugiau nei viršutinė KIR] (NPM1 Mutation DETECTED [Above upper LoQ])

NPM1 mutacija buvo aptikta lygyje > 500%.

Jei rezultatas yra „**NPM1 mutacija APTIKTA [daugiau nei viršutinė KIR] (NPM1 Mutation DETECTED [Above upper LoQ])**“, NPM1 mutacija aptinkama, kai NPM1 mutacijos Ct yra didesnis arba lygus „6“ ir mažesnis arba lygus „32“, o ABL Ct yra didesnis arba lygus „6“ ir mažesnis arba lygus „20“. GeneXpert programinė įranga apskaičiuoja %, naudodama šią lygtį, kur Delta Ct ( $\Delta Ct$ ) vertė gaunama iš ABL Ct atėmus NPM1 mutacijos Ct:

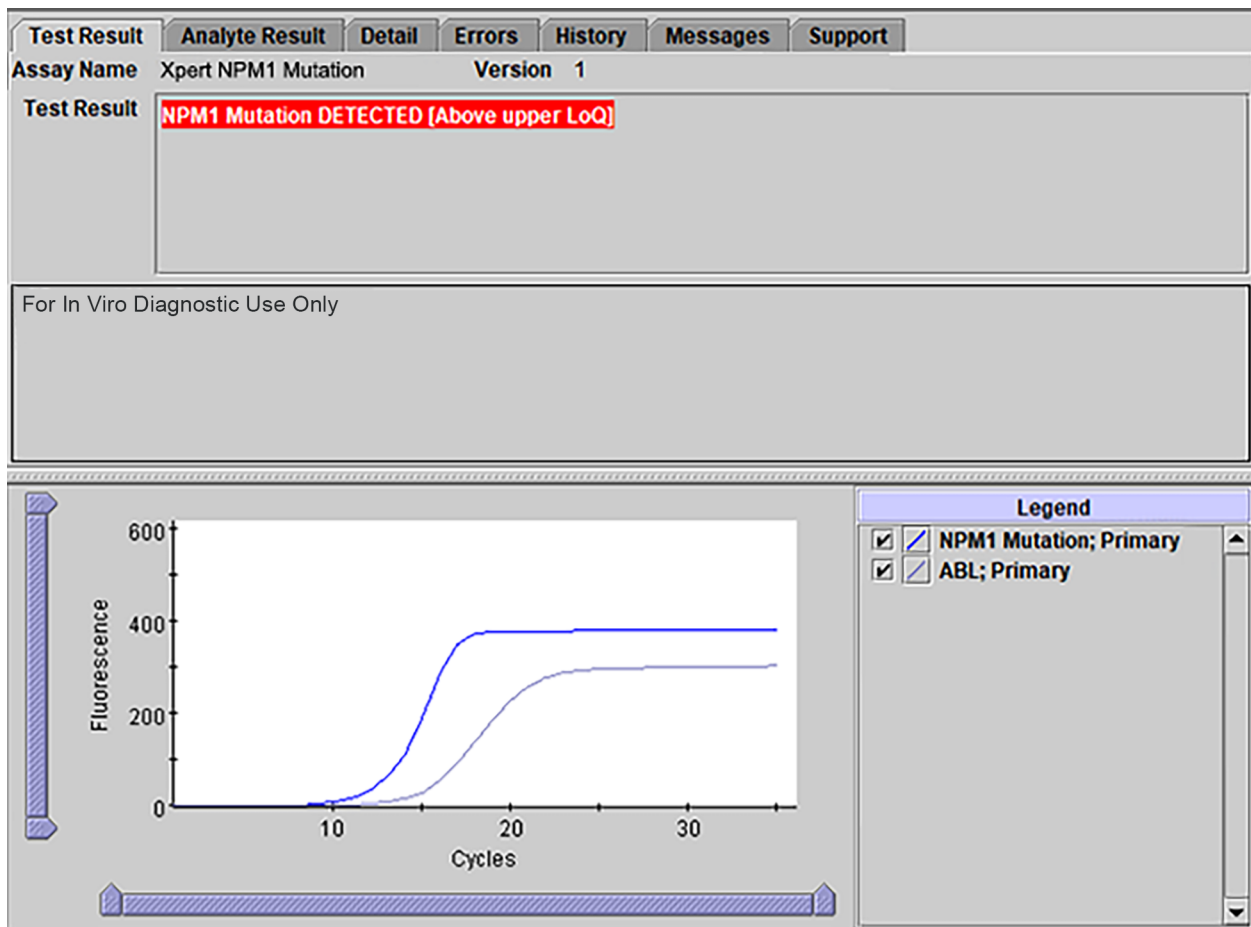
$$\% = E_{\Delta Ct}^{(\Delta Ct)} \times 100 \times \text{masto koeficientas (MK)}$$

### Pastaba

Masto koeficientas (*MK*) yra konkrečios partijos parametras, įterptas į analizės kasetės brūkšninį kodą. Šio koeficiento reikšmė ir konkrečios partijos analizės efektyvumas ( $E_{\Delta Ct}$ ) nustatomi atliekant kiekvienos analizės partijos kokybės kontrolės tyrimus, naudojant pirminius standartus, kalibruotus pagal kopijų numerius iš sintetinės NPM1 mutacijos ir ABL1 *in vitro* nuorašų RNR (IVT-RNR) kalibratorius skirtus NPM1 mutacijos nuorašų kiekybiniam įvertinimui.  $E_{\Delta Ct}$  yra nustatytas 1,95 ir *MK* vertė nustatyta 1,79 čia pateikiamo pavyzdžio naudojimui.

**Pavyzdys:** Konkrečios partijos  $E_{\Delta Ct} = 1,95$ ;  $MK = 1,79$   
 Analizės ABL Ct = 13,4; NPM1 mutacijos Ct = 10,2;  $\Delta Ct = 3,2$   
 $\% = 1,95^{(3,2)} \times 100 \times 1,79 = 1516,92\%$  yra didesnis nei nustatyta analizės viršutinė KIR prie 500%

**Rezultatas:** **NPM1 mutacija APTIKTA [daugiau nei viršutinė KIR] (NPM1 Mutation DETECTED [Above upper LoQ])**, Žr. pav. 3.



pav. 3. GeneXpert Dx langas „Peržiūrėti rezultatus“: NPM1 mutacija APTIKTA [daugiau nei viršutinė KIR] (NPM1 Mutation DETECTED [Above upper LoQ])

### 16.3 NPM1 MUTACIJA APTIKTA [mažiau AR; <0,030%] (NPM1 Mutation DETECTED [Below LoD; 0.030%])

NPM1 mutacija buvo aptikta lygyje < 0.030%.

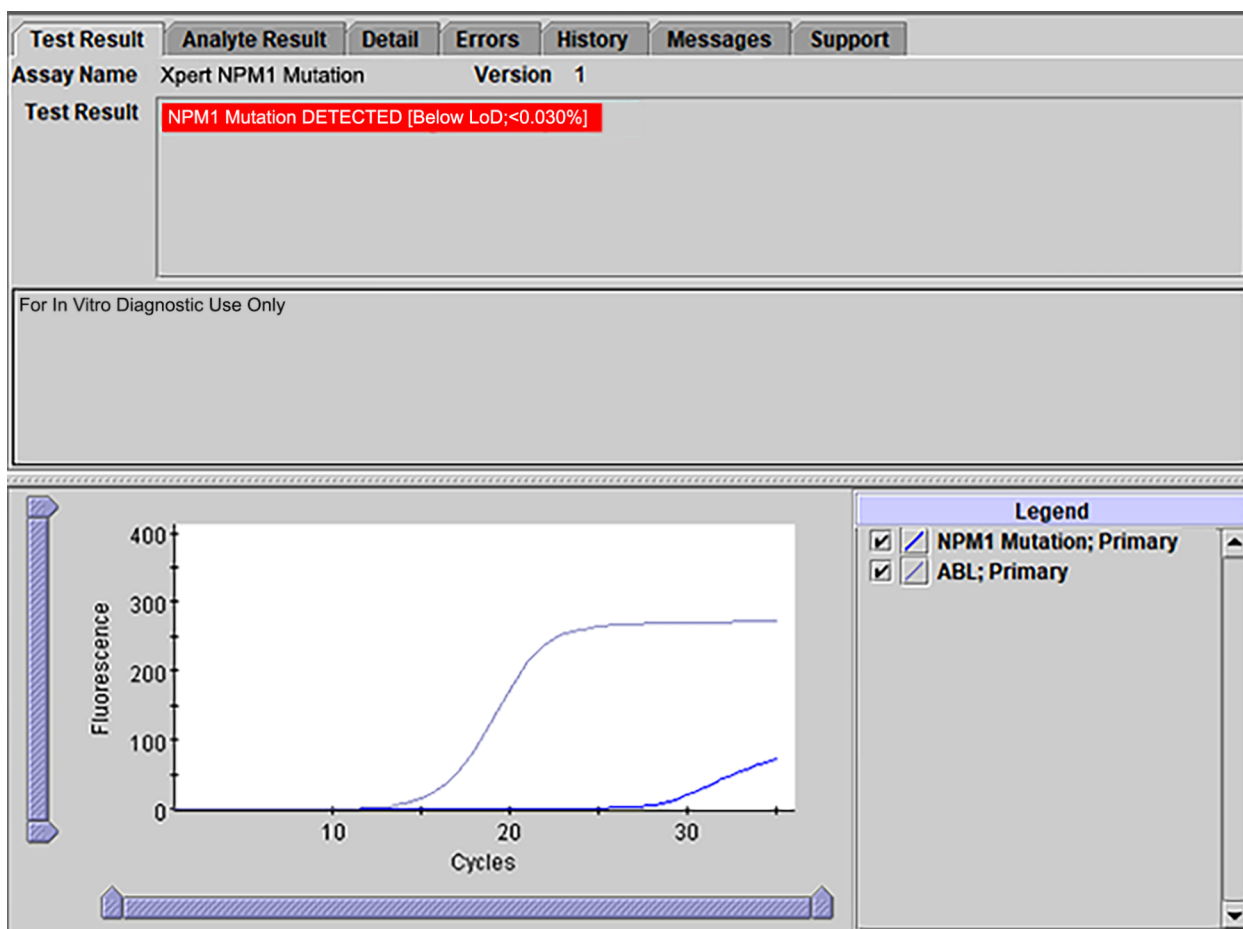
Jei rezultatas yra „NPM1 mutacija APTIKTA [mažiau AR; <0,030%] (NPM1 Mutation DETECTED [Below LoD; 0.030%])“, NPM1 mutacija aptinkama, kai NPM1 mutacijos Ct yra didesnis arba lygus „6“ ir mažesnis arba lygus „32“, o ABL Ct yra didesnis arba lygus „6“ ir mažesnis arba lygus „20“. GeneXpert programinė įranga apskaičiuoja %, naudodama šią lygtį, kur Delta Ct ( $\Delta Ct$ ) vertė gaunama iš ABL Ct atėmus NPM1 mutacijos Ct:

$$\% = E_{\Delta Ct}^{(\Delta Ct)} \times 100 \times \text{masto koeficientas (MK)}$$

**Pastaba** Masto koeficientas (MK) yra konkrečios partijos parametras, įterptas į analizės kasetės brūkšninį kodą. Šio koeficiento reikšmė ir konkrečios partijos analizės efektyvumas ( $E_{\Delta Ct}$ ) nustatomi atliekant kiekvienos analizės partijos kokybės kontrolės tyrimus, naudojant pirminius standartus, kalibruotus pagal kopijų numerius iš sintetinės NPM1 mutacijos ir ABL1 *in vitro* nuorašų RNR (IVT-RNR) kalibratorius skirtus NPM1 mutacijos nuorašų kiekybiniam įvertinimui.  $E_{\Delta Ct}$  yra nustatytas 1,95 ir MK vertė nustatyta 1,79 čia pateikiamo pavyzdžio naudojimui.

**Pavyzdys:** Konkrečios partijos  $E_{\Delta Ct} = 1,95$ ;  $MK = 1,79$   
 Analizės ABL Ct = 14,3; NPM1 mutacijos Ct = 28,8;  $\Delta Ct = -14,5$   
 $\% = 1,95^{(-14,5)} \times 100 \times 1,79 = 0,011\%$  yra mažesnis nei nustatyta analizės AR prie 0,030%

**Rezultatas:** NPM1 mutacija APTIKTA [mažiau AR; <0,030%] (NPM1 Mutation DETECTED [Below LoD; 0.030%]). Žr. pav. 4.



pav. 4. „GeneXpert“ langas „Peržiūrėti rezultatus“: NPM1 MUTACIJA APTIKTA [mažiau AR; <0,030%] (NPM1 Mutation DETECTED [Below LoD; 0.030%])

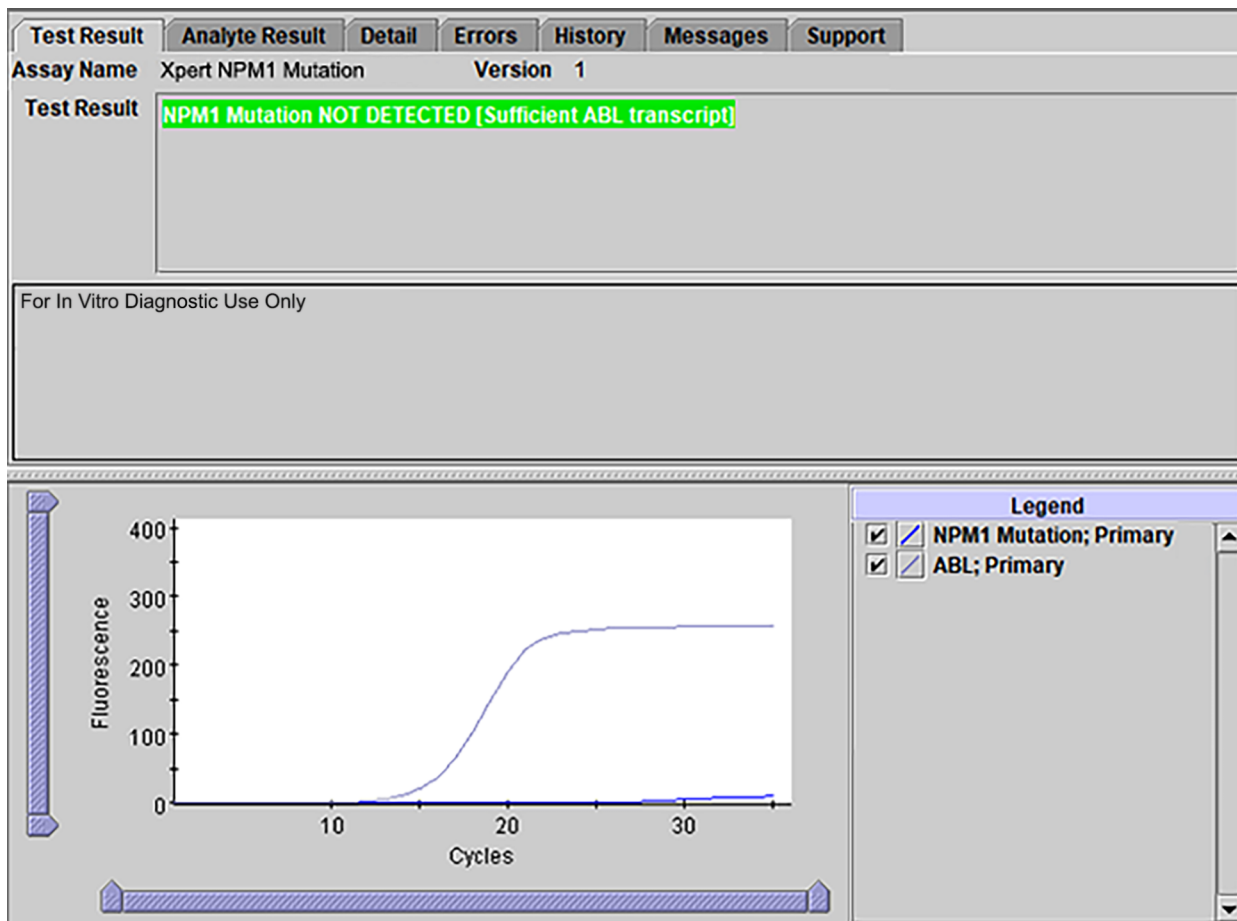
## 16.4 NPM1 mutacija NEAPTİKTA [pakankamas ABL nuorašas] (NPM1 Mutation NOT DETECTED [Sufficient ABL transcript])

NPM1 mutacija buvo neaptikta, kai NPM1 mutacijos Ct buvo lygus „0“ arba didesnis nei „32“, o ABL Ct buvo didesnis nei „6“ ir mažesnis arba lygus „20“.

GeneXpert programinė įranga reikalauja, kad Xpert NPM1 Mutation tyrimui ABL Ct būtų didesnis arba lygus „6“ ir mažesnis arba lygus „20“, kad būtų užtikrintas „Pakankamas ABL nuorašas“. Žr. Skirsnis 15, „Rezultatų interpretavimas“, 1 lentelė.

**Pavyzdys:** Analizės NPM1 mutacijos Ct = 0; ABL Ct = 14,0 yra tarp „6“ ir „20“.

**Rezultatas:** NPM1 mutacija NEAPTİKTA [pakankamas ABL nuorašas] (NPM1 Mutation NOT DETECTED [Sufficient ABL transcript]). Žr. pav. 5.



pav. 5. „GeneXpert“ langas „Peržiūrėti rezultatus“: NPM1 mutacija NEAPTİKTA [pakankamas ABL nuorašas] (NPM1 Mutation NOT DETECTED [Sufficient ABL transcript])



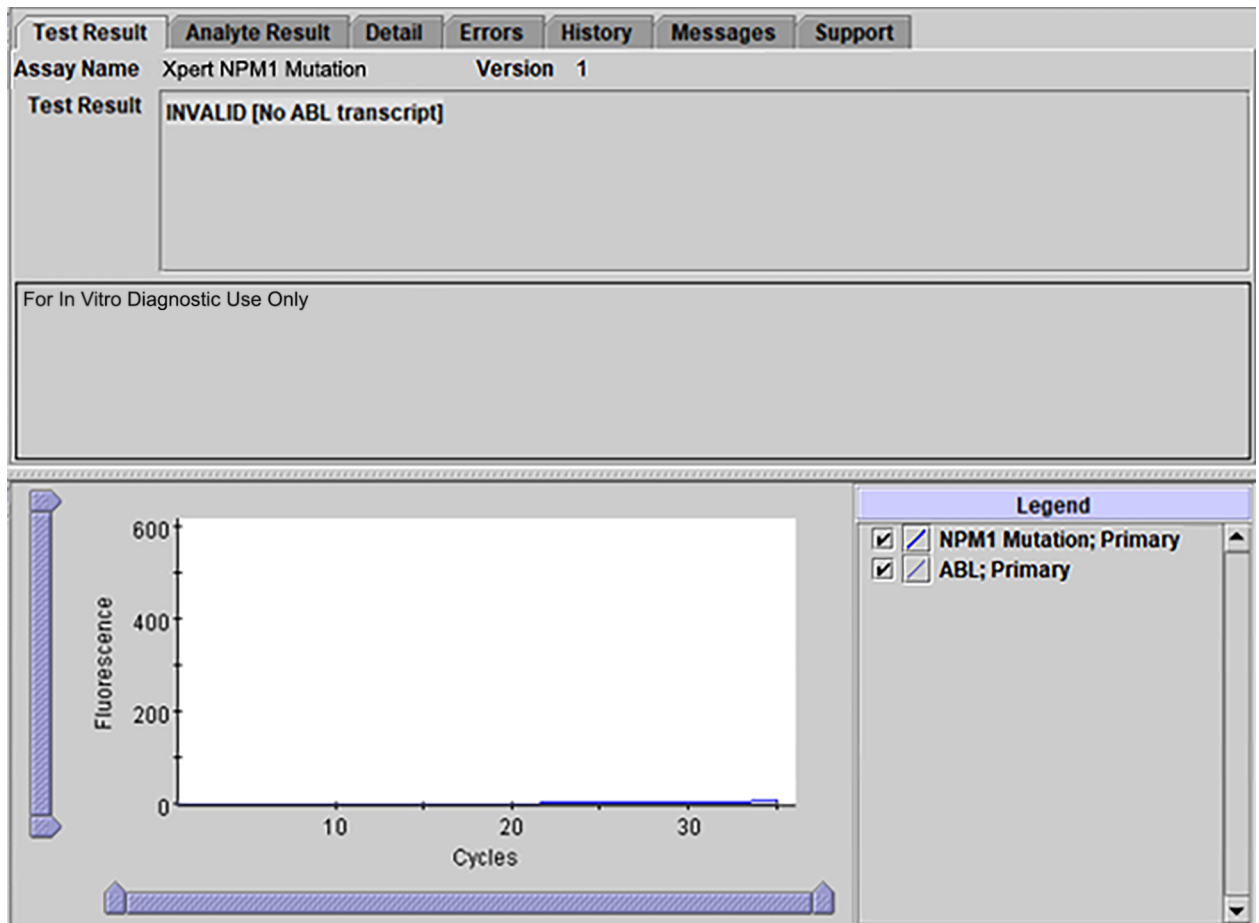
## 16.5 NEGALIOJANTIS [nėra ABL nuorašo] (INVALID [No ABL transcript])

NPM1 mutacija buvo aptikta arba neaptikta, kai ABL Ct lygus „0“.

GeneXpert programinė įranga reikalauja, kad Xpert NPM1 Mutation tyrimui ABL Ct būtų didesnis arba lygus „6“ ir mažesnis arba lygus „20“, kad būtų užtikrintas „Pakankamas ABL nuorašas“. Žr. Skirsnis 18, „Trikčių šalinimo vadovas“.

**Pavyzdys:** Analizės NPM1 mutacijos Ct = 0; ABL Ct = 0.

**Rezultatas:** **NEGALIOJANTIS [nėra ABL nuorašo] (INVALID [No ABL transcript])**. Žr. pav. 6.



pav. 6. „GeneXpert“ langas „Peržiūrėti rezultatus“:  
NEGALIOJANTIS [nėra ABL nuorašo] (INVALID [No ABL transcript])

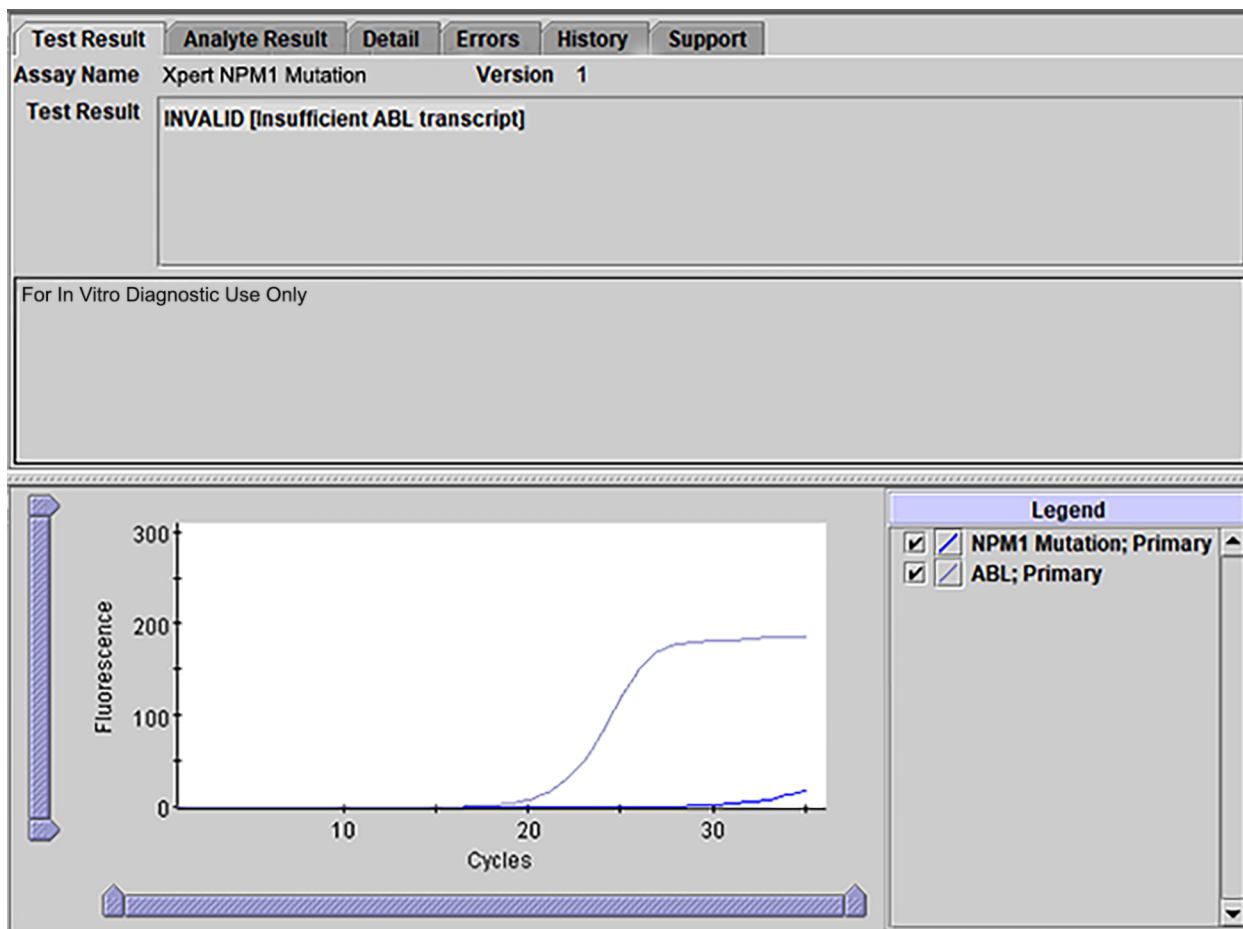
## 16.6 NEGALIOJANTIS [nepakankamas ABL nuorašas] (INVALID [Insufficient ABL transcript])

NPM1 mutacija buvo aptikta arba neaptikta, kai ABL Ct didesnis nei „20“.

GeneXpert programinė įranga reikalauja, kad Xpert NPM1 Mutation tyrimui ABL Ct būtų didesnis arba lygus „6“ ir mažesnis arba lygus „20“, kad būtų užtikrintas „Pakankamas ABL nuorašas“. Žr. Skirsnis 18, „Trikčių šalinimo vadovas“.

**Pavyzdys:** Analizės NPM1 mutacijos Ct = 33,3; ABL Ct = 20,2 yra didesnis nei „20“.

**Rezultatas:** **NEGALIOJANTIS [nepakankamas ABL nuorašas] (INVALID [Insufficient ABL transcript])**. Žr. pav. 7.



pav. 7. „GeneXpert“ langas „Peržiūrėti rezultatus“: NEGALIOJANTIS [nepakankamas ABL nuorašas] (INVALID [Insufficient ABL transcript])

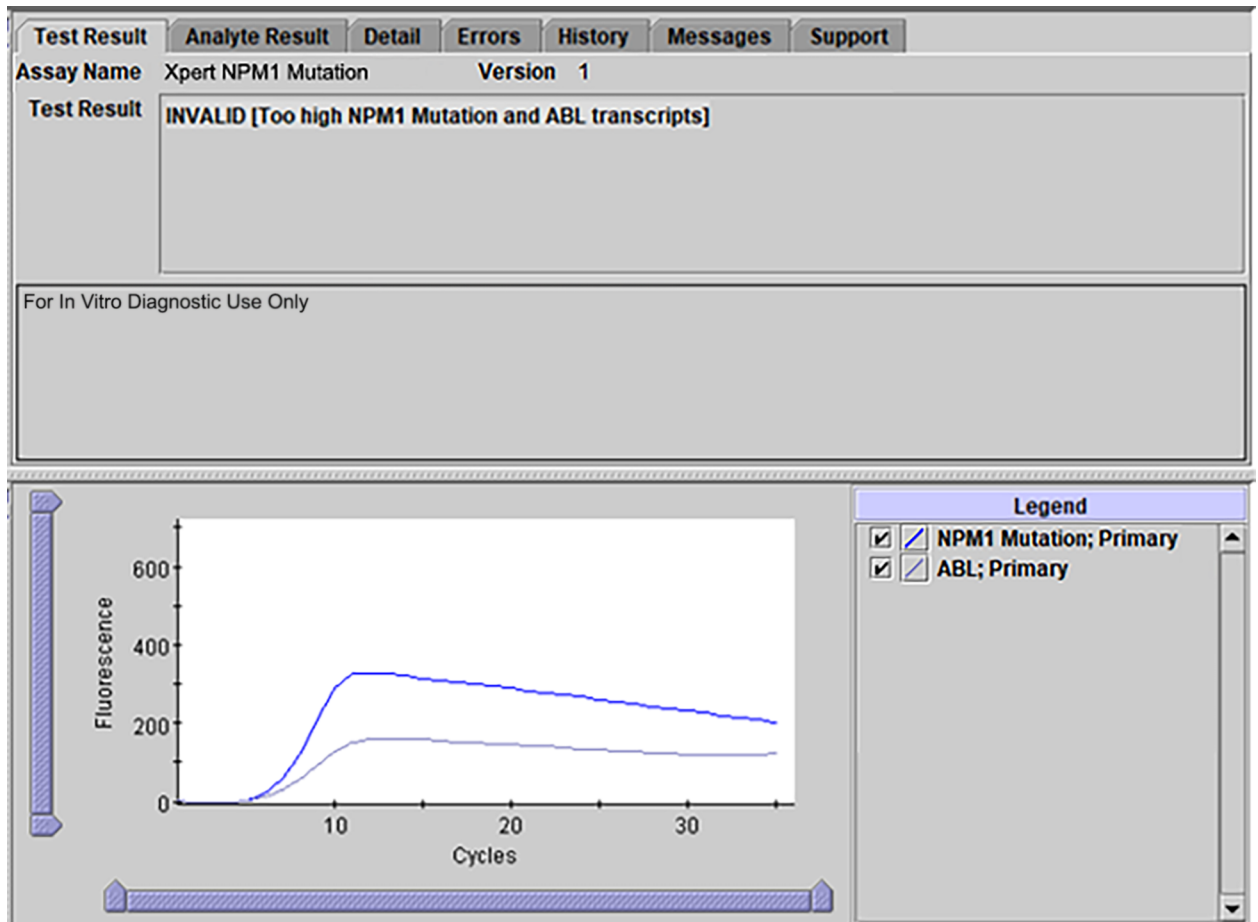
## 16.7 NEGALIOJANTIS [per daug NPM1 mutacijos ir ABL nuorašo] (INVALID [Too high NPM1 Mutation and ABL transcript])

NPM1 mutacija buvo aptikta, kai NPM1 mutacijos ir ABL Ct buvo didesni nei „0“ ir mažesni nei „6“.

GeneXpert programinė įranga reikalauja, kad Xpert NPM1 Mutation tyrimui ABL Ct būtų didesnis arba lygus „6“ ir mažesnis arba lygus „20“, kad būtų užtikrintas „Pakankamas ABL nuorašas“. Žr. Skirsnis 18, „Trikčių šalinimo vadovas“.

**Pavyzdys:** Analizės NPM1 mutacijos Ct = 5,4 yra didesnis nei „0“ ir mažesnis nei „6“; ABL Ct = 5,9 yra mažesnis nei „6“.

**Rezultatas:** **NEGALIOJANTIS [per daug NPM1 mutacijos ir ABL nuorašo] (INVALID [Too high NPM1 Mutation and ABL transcript])**. Žr. pav. 8.



pav. 8. GeneXpert Dx langas „Peržiūrėti rezultatus“: NEGALIOJANTIS [per daug NPM1 mutacijos ir ABL nuorašo] (INVALID [Too high NPM1 Mutation and ABL transcript])

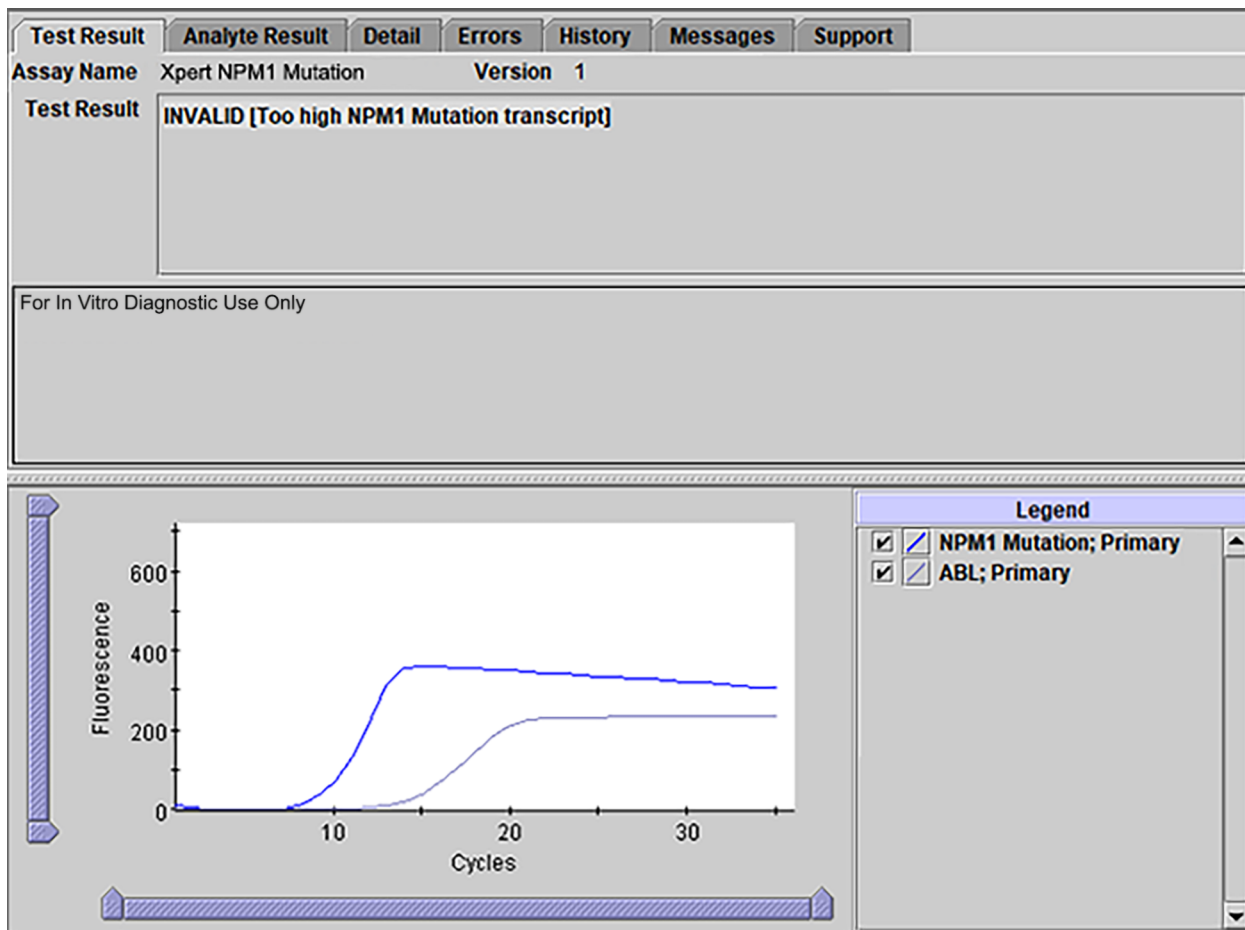
## 16.8 NEGALIOJANTIS [per daug NPM1 mutacijos nuorašo] (INVALID [Too high NPM1 Mutation transcript])

NPM1 mutacija buvo aptikta, kai NPM1 mutacijos Ct buvo didesnis nei „0“ ir mažesnis nei „6“, o ABL Ct didesnis nei „6“ ir mažesnis arba lygus „20“.

GeneXpert programinė įranga reikalauja, kad Xpert NPM1 Mutation tyrimui ABL Ct būtų didesnis arba lygus „6“ ir mažesnis arba lygus „20“, kad būtų užtikrintas „Pakankamas ABL nuorašas“. Žr. Skirsnis 18, „Trikčių šalinimo vadovas“.

**Pavyzdys:** Analizės NPM1 mutacijos Ct = 5,8 yra didesnis nei „0“ ir mažesnis nei „6“; ABL Ct = 13 yra tarp „6“ ir „20“.

**Rezultatas:** **NEGALIOJANTIS [per daug NPM1 mutacijos nuorašo] (INVALID [Too high NPM1 Mutation transcript])**. Žr. pav. 9.



pav. 9. „GeneXpert“ langas „Peržiūrėti rezultatus“: NEGALIOJANTIS [per daug NPM1 mutacijos nuorašo] (INVALID [Too high NPM1 Mutation transcript])

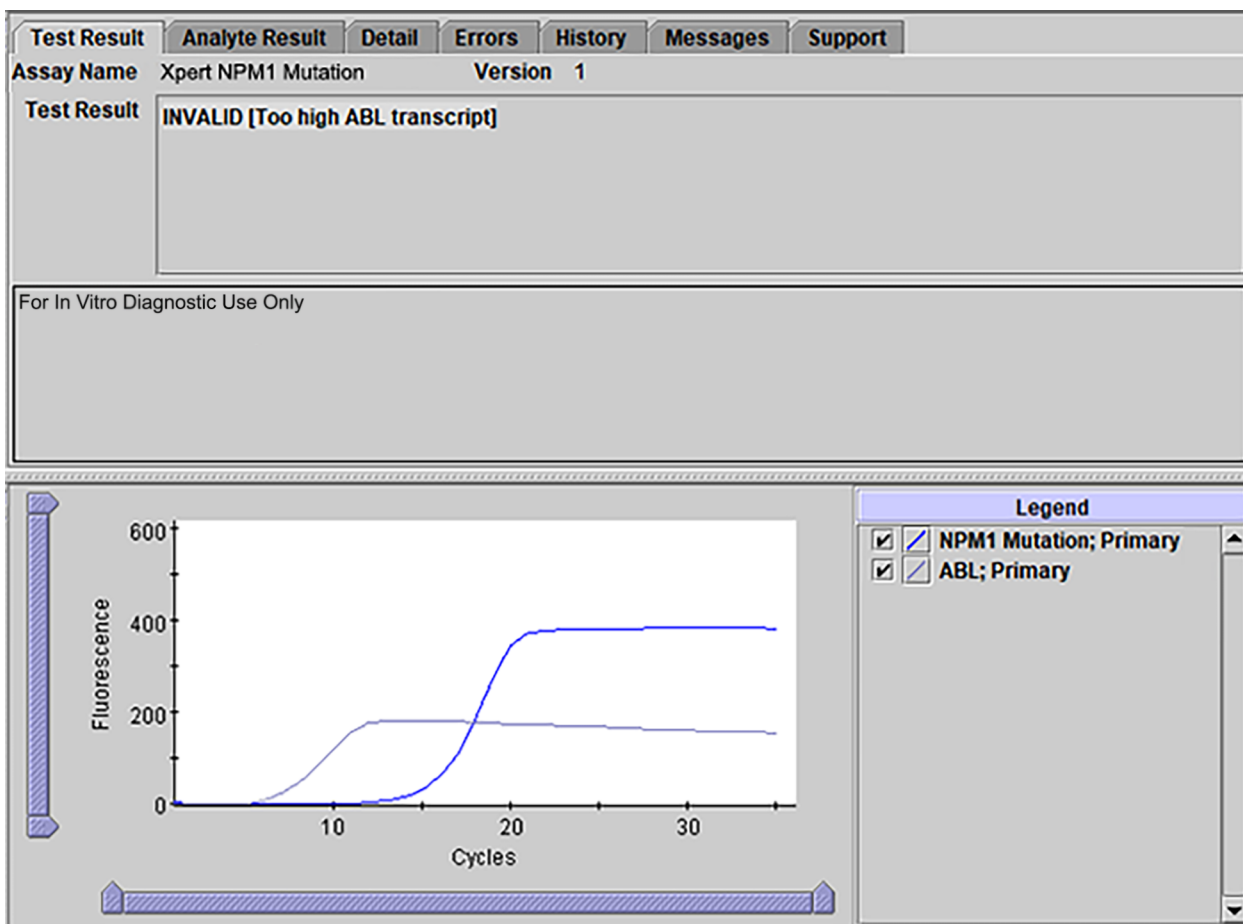
## 16.9 NEGALIOJANTIS [per daug ABL mutacijos nuorašo] (INVALID [Too high ABL mutation transcript])

NPM1 mutacija buvo aptikta, kai NPM1 mutacijos Ct buvo didesnis nei „6“ ir mažesnis arba lygus „32“, o ABL Ct nelygus „0“ ir mažesnis nei „6“.

GeneXpert programinė įranga reikalauja, kad Xpert NPM1 Mutation tyrimui ABL Ct būtų didesnis arba lygus „6“ ir mažesnis arba lygus „20“, kad būtų užtikrintas „Pakankamas ABL nuorašas“. Žr. Skirsnis 18, „Trikčių šalinimo vadovas“.

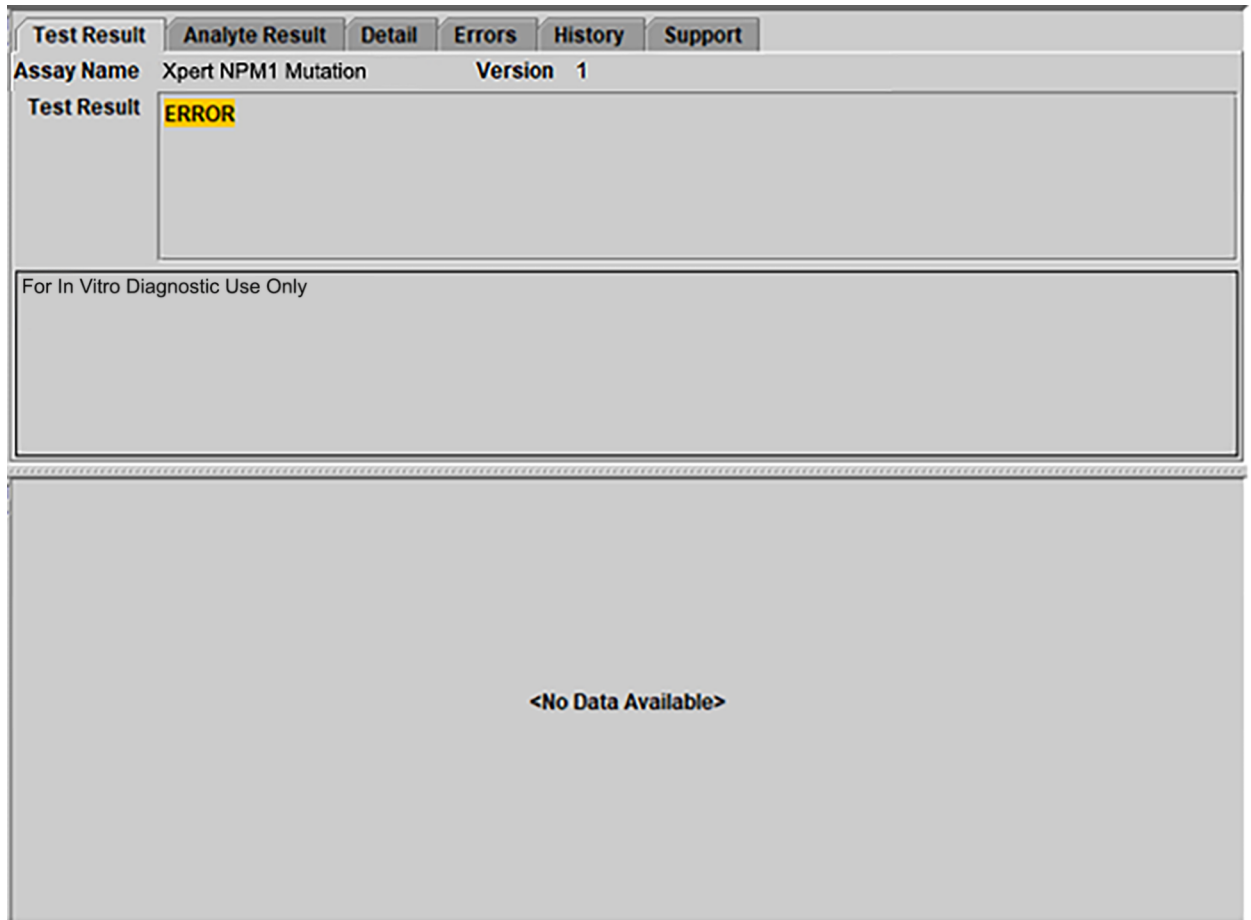
**Pavyzdys:** Analizės NPM1 mutacijos Ct = 13,2; ABL Ct = 5,8 yra mažesnės nei „6“.

**Rezultatas:** **NEGALIOJANTIS [per daug ABL nuorašo] (INVALID [Too high ABL transcript])**. Žr. pav. 10.



pav. 10. „GeneXpert“ langas „Peržiūrėti rezultatus“: NEGALIOJANTIS [per daug ABL nuorašo] (INVALID [Too high ABL transcript])

## 16.10 KLAIDA (ERROR)



pav. 11. „GeneXpert“ langas „Peržiūrėti rezultatus“: KLAIDA (ERROR)

## 17 Analizės apribojimai

- Analizė nėra skirta naudoti su išoriniais kalibratoriais.
- Šių procedūrų pakeitimai gali pakeisti analizės funkciją.
- Šis produktas buvo skirtas naudoti tik su krauju, surinktu EDTA mėgintuvėliuose.
- Nenaudokite heparino kaip antikoagulianto, nes jis gali slopinti PGR reakciją.
- Natrio citrato, leuko-trombo sluoksnio ir kaulų čiulpų mėginių tipai nebuvo patvirtinti.
- Klaidingi analizės rezultatai gali kilti dėl netinkamo mėginių surinkimo, naudojimo, laikymo ar sumaišymo. Norint išvengti klaidingų rezultatų, būtina atidžiai laikytis naudojimo instrukcijų.
- Mutacijos ar polimorfizmai pradmenis arba zondą rišančiuose regionuose gali turėti įtakos naujų ar nežinomų variantų aptikimui ir gali sukelti klaidingai neigiamą rezultatą.
- Dėl pernelyg didelio baltųjų kraujo kūnelių skaičiaus kasetėje gali susidaryti spaudimas, todėl vykdymas gali būti nutrauktas arba rezultatai gali būti netikslūs.
- Kai kurie mėginiai, kurių ABL nuorašo kiekis labai mažas arba kurių baltųjų kraujo kūnelių kiekis mažesnis nei 150 000 ląstelių/ml, gali būti nurodyti **NEGALIOJANTIS (INVALID)** (1 tipo). Nenustatytas rezultatas neatmeta, kad mėginyje yra labai mažai leukeminių ląstelių.

# 18 Trikčių šalinimo vadovas

I lentelė 3. Trikčių šalinimo vadovas

Analizės rezultatas	Galimos priežastys	Patarimai
<b>NETINKAMAS (INVALID)</b>	1 tipas: Endogeninės kontrolės ABL klaida: <ul style="list-style-type: none"> <li>• Prasta mėginio kokybė</li> <li>• AT-PGR slopinimas</li> <li>• ABL Ct &gt; 20, ir (arba) baigties taškas &lt; 100</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Patikrinkite mėginio kokybę (pvz., viršytas mėginio laikymo reikalavimas, įskaitant laiką ir temperatūrą).</li> <li>• Pakartokite analizę su originaliu mėginiu (jei yra) arba iš išsaugoto lizato ir naujos kasetės, vadovaudamiesi procedūra, kaip aprašyta Skirsnis 19.1, „Pakartotinio tyrimo procedūra dėl KLAIDA (ERROR) arba NEGALIOJANTIS (INVALID) (1 tipas)“.</li> </ul>
	2 tipas: NPM1 mutacijos nuorašo lygio negalima nustatyti, nes mėginyje yra per daug NPM1 mutacijos ir (arba) ABL nuorašų (Ct < 6)	Pakartokite analizę su originaliu mėginiu (jei yra) arba iš išsaugoto lizato ir naujos kasetės, vadovaudamiesi procedūra, kaip aprašyta Skirsnis 19.2, „Pakartotinio tyrimo procedūra, kai yra KLAIDA (ERROR) (kodas 2008) arba NEGALIOJANTIS (INVALID) (2 tipas)“.
<b>KLAIDA (ERROR)</b> (kodas 2008)	Slėgis viršija ribą (2008 klaidos pranešimas)	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Patikrinkite mėginio kokybę</li> <li>• Patikrinkite, ar stipriai nepadidėjęs BKK skaičius</li> <li>• Pakartokite analizę su originaliu mėginiu (jei yra) arba iš išsaugoto lizato ir naujos kasetės, vadovaudamiesi procedūra, kaip aprašyta Skirsnis 19.2, „Pakartotinio tyrimo procedūra, kai yra KLAIDA (ERROR) (kodas 2008) arba NEGALIOJANTIS (INVALID) (2 tipas)“.</li> </ul>
<b>KLAIDA (ERROR)</b> (kodas 5006, 5007, 5008 ir 5009*)  *Tai nėra baigtinis KLAIDŲ (ERROR) kodų sąrašas.	Zondo patikrinimas nepavyko	Pakartokite analizę su originaliu mėginiu (jei yra) arba iš išsaugoto lizato ir su nauja kasete, vadovaudamiesi procedūra, kaip aprašyta Skirsnis 19.1, „Pakartotinio tyrimo procedūra dėl KLAIDA (ERROR) arba NEGALIOJANTIS (INVALID) (1 tipas)“.
<b>REZULTATO NĖRA (NO RESULT)</b>	Duomenų surinkimo klaida. Pavyzdžiui, operatorius sustabdė vykstančią analizę arba įvyko elektros maitinimo gedimas.	Pakartokite analizę su originaliu mėginiu (jei yra) arba iš išsaugoto lizato ir su nauja kasete, vadovaudamiesi procedūra, kaip aprašyta Skirsnis 19.1, „Pakartotinio tyrimo procedūra dėl KLAIDA (ERROR) arba NEGALIOJANTIS (INVALID) (1 tipas)“.

## 19 Pakartotiniai tyrimai

### 19.1 Pakartotinio tyrimo procedūra dėl KLAIDA (ERROR) arba NEGALIOJANTIS (INVALID) (1 tipas)

Pakartotinai ištyrinkite mėginius su **KLAIDA (ERROR)** ar **NEGALIOJANTIS (INVALID)** rezultatais dėl ABL slenkstinio ciklo (Ct) viršijančio didžiausią galiojantį Ct ( $Ct > 20$ ) arba baigties taško, esančio žemiau minimalios nuostatos ( $< 100$ ). Taip pat žr. Skirsnis 18, „Trikčių šalinimo vadovas“.

1. Jei yra pakankamas kraujo mėginio tūris, pakartokite tyrimą iš pradinio kraujo mėginio surinkimo mėgintuvėlio, atlikdami procedūrą, aprašytą Skirsnis 12.2.

-ARBA-

Jei yra nepakankamas kraujo mėginio tūris, pakartotinis tyrimas gali būti atliekamas su išsaugotu lizatu nuo Skirsnis 12.2.1 12 veiksmo.

- a. Jei išsaugotas lizatas iš Skirsnis 12.2.1 12 veiksmo yra laikomas užšaldytas, prieš naudojimą atšildykite iki kambario temperatūros.
  - b. Įsitikinkite, kad lizatas gerai sumaišytas, 10 sekundžių nepertraukiamai maišydami mėginį maišytuvu maksimaliu nustatymu ir palikite 3 minutėms, kad burbuliukai nusistovėtų.
2. Perkelkite 1 ml paruošto lizato į naują 50 ml kūginį mėgintuvėlį.
  3. Atlikite 13–17 veiksmus iš Skirsnis 12.2.1, kad pasidarytumėte galutinį lizatą.
  4. Atidarykite kasetę pakeldami kasetės dangtelį ir perkelkite visą plovimo reagento vienos (1) ampulės turinį į plovimo reagento kamerą (su maža anga). Žr. pav. 1.
  5. Pipete supilkite visą paruošto mėginio turinį į mėginio kamerą (didelė anga). Žr. pav. 1.
  6. Uždarykite kasetės dangtelį. Pradėkite analizę (žr. Skirsnis 12.4, „Analizės pradėjimas“).

### 19.2 Pakartotinio tyrimo procedūra, kai yra KLAIDA (ERROR) (kodas 2008) arba NEGALIOJANTIS (INVALID) (2 tipas)

Pakartotinai ištyrinkite mėginius su NPM1 mutacija ir (arba) ABL nuorašų lygiais, esančiais žemiau galiojančių minimaliai Ct ( $Ct > 0$  ir  $Ct < 6$ ) ir (arba) kai viršijama slėgio riba. Taip pat žr. Skirsnis 18, „Trikčių šalinimo vadovas“.

1. Į naujo 50 ml kūginio mėgintuvėlio dugną įpilkite 100  $\mu$ l PK (proteinazės K).
2. Įsitikinkite, kad kraujo mėginys arba likęs lizatas iš Skirsnis 12.2, 12 veiksmo yra gerai sumaišytas, apversdami mėgintuvėlį 8 kartus iš karto prieš pipetuoiant.
3. Į mėgintuvėlį, kuriame jau yra proteinazės K, įpilkite 250  $\mu$ l kraujo mėginio ir 3,75 ml PBS (pH 7,4, pateikia naudotojas), jei yra, arba 60  $\mu$ l išsaugoto lizato iš Skirsnis 12.2.1, 12 veiksmo.
  - a. Jei išsaugotas lizatas iš Skirsnis 12.2.1 12 veiksmo yra laikomas užšaldytas, prieš naudojimą atšildykite iki kambario temperatūros.
  - b. Įsitikinkite, kad lizatas gerai sumaišytas, 10 sekundžių nepertraukiamai maišydami mėginį maišytuvu maksimaliu nustatymu ir palikite 3 minutėms, kad burbuliukai nusistovėtų.
4. Nepertraukiamai 3 sekundes maišykite mėginį maišytuvu maksimaliu nustatymu.
5. Inkubuokite kambario temperatūroje 1 minutę.
6. Norėdami pakartotinai tirti kraujo mėginį su PBS, atlikite 6–17 veiksmus iš Skirsnis 12.2.1, kad gautumėte galutinį lizatą. Norėdami pakartotinai ištyrinti išsaugoto lizato mėginį, atlikite toliau nurodytus a–g veiksmus, kad gautumėte galutinį lizatą.
  - a. Į mėgintuvėlį su pakartotinai tiriamu mėginiu iš išsaugoto lizato įpilkite 2,5 ml LY.
  - b. Nepertraukiamai 10 sekundžių maišykite mėginį maišytuvu maksimaliu nustatymu.
  - c. Inkubuokite kambario temperatūroje 5 minutes.
  - d. Nepertraukiamai 10 sekundžių maišykite mėginį maišytuvu maksimaliu nustatymu.
  - e. Inkubuokite kambario temperatūroje 5 minutes.
  - f. Į tą patį mėgintuvėlį įpilkite 2 ml reagento klasės absoliutaus etanolio (pateikia naudotojas)
  - g. Nepertraukiamai 10 sekundžių maišykite mėginį maišytuvu maksimaliu nustatymu. Padėkite į šalį.
7. Atidarykite kasetę pakeldami kasetės dangtelį ir perkelkite visą plovimo reagento vienos (1) ampulės turinį į plovimo reagento kamerą (su maža anga). Žr. pav. 1.
8. Pipete supilkite visą paruošto mėginio turinį į mėginio kamerą (didelė anga). Žr. pav. 1.



9. Uždarykite kasetės dangtelį. Pradėkite analizę (žr. Skirsnis 12.4, „Analizės pradėjimas“).

## 20 Numatomos vertės

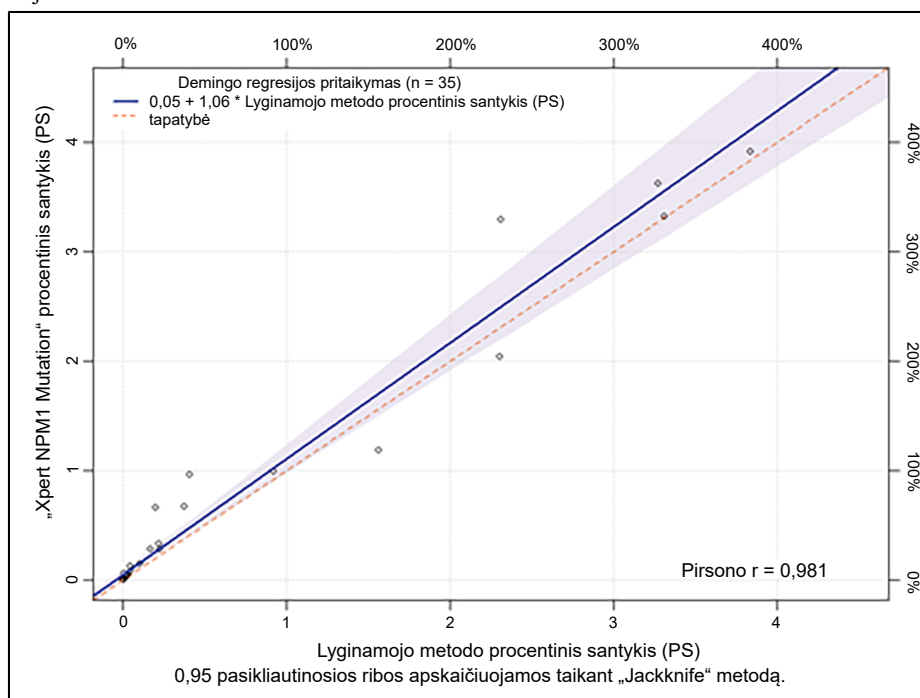
Xpert NPM1 Mutation diapazonas apima pagrindinius klinikinio sprendimo taškus stebint ŪML. Numatomos vertės išreiškiamos NPM1 mutacijos mRNR ir ABL mRNR procentiniu santykiu ir svyruoja nuo 0,030% iki 500%. Matavimai žemiau šio diapazono nurodomi kaip neaptikti arba mažesni už aptikimo ribą (AR). Matavimai, viršijantys šį diapazoną, nurodomi kaip viršijantys kiekybinio įvertinimo ribą (KIR). Žr. Skirsnis 15 norėdami gauti daugiau informacijos.

## 21 Klinikinis veiksmingumas

Daugiacentrė stebėjimo metodų palyginimo studija buvo atlikta trijuose centruose JAV ir viename centre už JAV ribų. Mėginiai iš 40 individualių ŪML pacientų, kuriems nustatyta NPM1 mutacija vienu laiko momentu ir patenkanti į Xpert NPM1 Mutation tyrimo dinaminį diapazoną, buvo įtraukti į studiją. Buvo surinkta informacija apie pacientų, iš kurių buvo paimti mėginiai, amžių ir lytį. Pasiskirstymas pagal lytį buvo 11 vyrų (27,5%) ir 29 moterys (72,5%). Visi mėginiai buvo paimti iš 16–81 metų amžiaus pacientų, vidutiniškai 59,7 metų.

Visi 40 mėginių davė tinkamus tyrimų rezultatus. Trisdešimt šeši iš 40 mėginių davė rezultatus abiejų tyrimų kiekybiniuose diapazonuose. Keturi mėginiai buvo neįtraukti į Demingo regresiją, nes mėginiai buvo neigiami atliekant Xpert NPM1 Mutation ir (arba) lyginamąjį tyrimą. Dar vienas mėginys buvo atmetas dėl išskirtinės vertės. Iš viso į Demingo regresijos analizę buvo įtraukti 35 mėginiai.

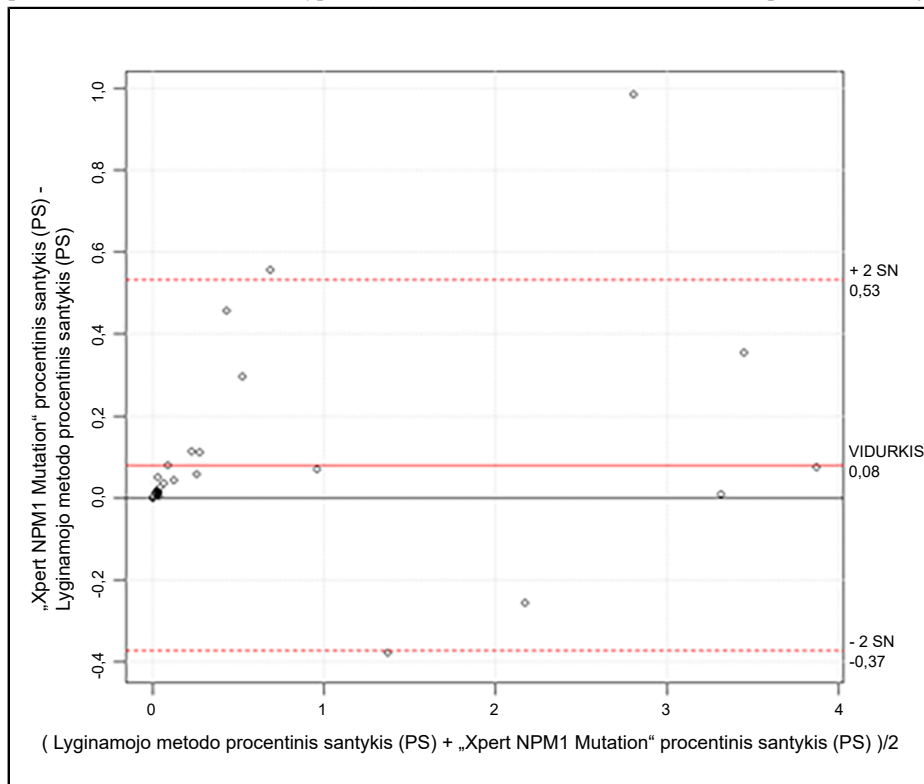
Xpert NPM1 Mutation tyrimo veiksmingumas lyginant su palyginamąja analize buvo įvertintas naudojant Demingo regresiją, nustatant nuolydį ir atkarpą. pav. 12 pateikiami Demingo regresijos analizės rezultatai, įskaitant nuolydį, atkarpą ir tapatybės liniją 35 mėginiuose. 95% pasikliautiniosios ribos buvo apskaičiuotos naudojant „Jackknife“ metodą ir pateikiamas Pirsono koreliacijos koeficientas.



pav. 12. Demingo regresija procentiniam santykiui

Demingo regresijos analizės procentinio santykio nuolydis ir atkarpa buvo atitinkamai 1,06 ir 0,05, o Pirsono koreliacija tarp Xpert NPM1 Mutation tyrimo ir lyginamojo tyrimo matavimų buvo 0,981.

Bland-Altman analizė procentinio santykio skirtumui buvo įvertinta 35 mėginiams su kiekybiniais rezultatais, kurie buvo tiesiniame Xpert NPM1 Mutation ir lyginamojo tyrimo diapazone. pav. 13 parodyta Bland-Altman diagrama su procentinio santykio skirtumu tarp dviejų tyrimų ir vidutinių procentinių santykių rezultatų kiekvienam mėginiui. Diagrama taip pat rodo viršutinius ir apatinius du standartinius nuokrypius (2SN) nuo vidutinio skirtumo, kuris buvo pastebėtas studijos metu.



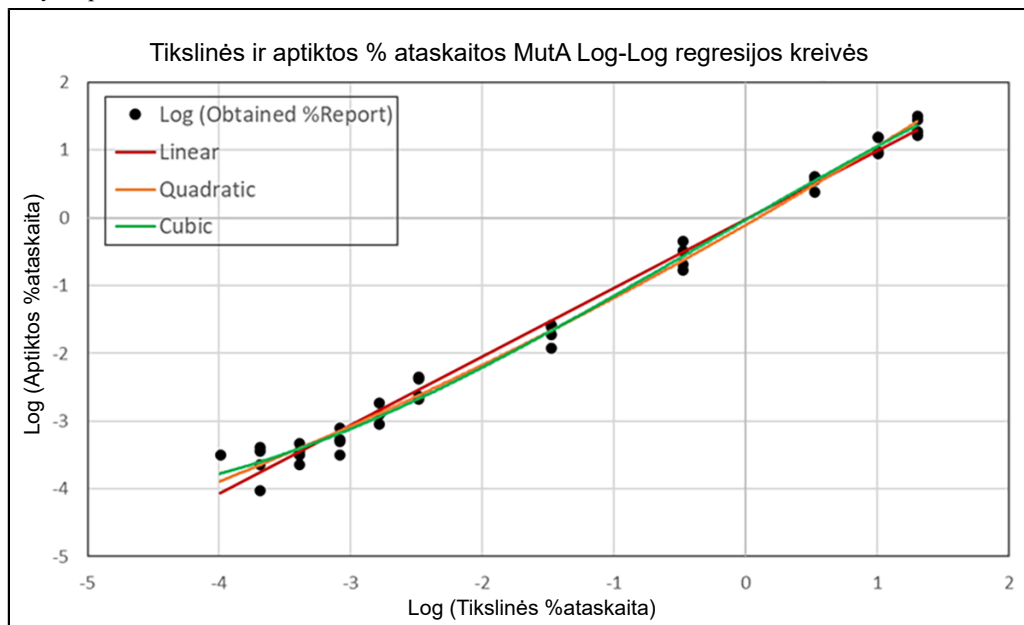
**pav. 13. Bland-Altman diagrama, skirta „Xpert NPM1 Mutation“ & lyginamojo tyrimo procentiniam santykiui**

Vidutinis skirtumas buvo 0,08 procentinio santykio tarp Xpert NPM1 Mutation ir lyginamojo tyrimo rezultatų. Dauguma (91,4%, 32/35) rezultatų buvo 2SN nuo vidutinio skirtumo.

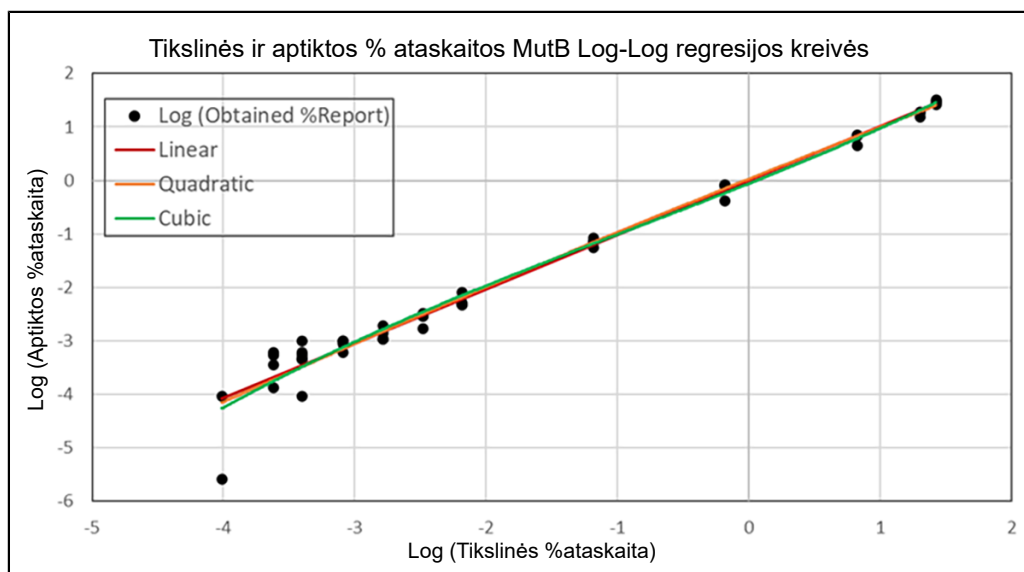
## 22 Analitiniai duomenys

### 22.1 Tiesiškumas / dinaminis diapazonas

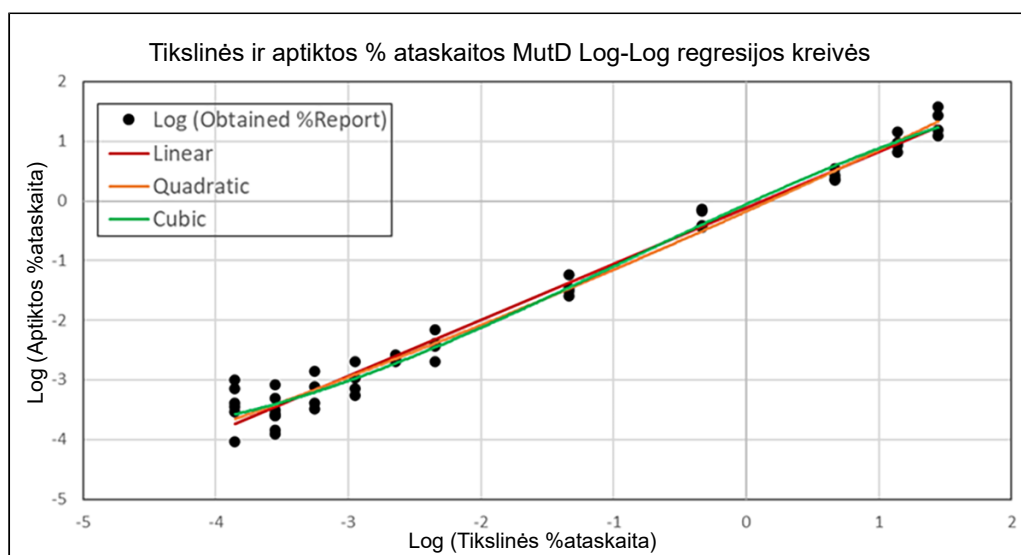
Tiesiškumas buvo nustatytas kiekvienam iš trijų NPM1 mutacijų potipių mutA, mutB ir mutD, naudojant ląstelių lizatus, kuriuose yra didelis kiekvieno potipio nuorašo kiekis. Tokie lizatai buvo atskiesti fono lizatu, paruoštu iš tariamai NPM1 mutacijai neigiamų donorų iki tikslinių ~ 0,01–2500% NPM1 mutacijos / ABL diapazonų. Visi lygiai buvo ištirti vienoje reagentų partijoje keturiais egzemplioriais. Tyrimai ir statistinė analizė buvo atlikta pagal CLSI EP06-A<sup>9</sup>. Kiekvieno potipio regresijos kreivės parodytos pav. 14, pav. 15, ir pav. 16. Kiekvieno potipio tiesinis diapazonas ir jų tiesinio modelio koeficientai yra apibendrinti lentelė 4.



pav. 14. mutA regresijos kreivės



pav. 15. mutB regresijos kreivės



pav. 16. mutD regresijos kreivės

lentelė 4. Tiesinių diapazonų ir tiesinių modelių koeficientų santrauka

Potipis	Tiesinis diapazonas	Atkarpa	Nuolydis	R <sup>2</sup>
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

Apskritai, Xpert NPM1 Mutation tyrimas parodė tiesiškumą tarp 0,014–2020% NPM1 mutacijos/ABL. Apribotas KIR ir programinės įrangos viršutinės ribos, nurodomas dinaminis diapazonas yra 0,030–500%.

## 22.2 Analitinis jautrumas (aptikimo riba, kiekybinio įvertinimo riba, tuščio mėginio riba)

Aptikimo riba (AR) yra mažiausias NPM1 mutacijos/ABL lygis, kuriam esant 95% mėginių nuolat nuorodmi kaip „**NPM1 mutacija APTIKTA [##,##%] (NPM1 Mutation DETECTED [##.##%])**“. AR buvo nustatyta mutA, mutB ir mutD potipiams atskirai, tiriant NPM1 mutacijai teigiamų ląstelių lizatų ir klinikinių lizatų, turinčių kiekvieną mutacijos potipį, serijinius skiedimus. Atitinkamos AR buvo apskaičiuotos ir patvirtintos pagal CLSI EP17-A2.<sup>10</sup> Gautas analizės parodė, kad AR buvo 0,025% mutA, 0,023% mutB ir 0,030% mutD (lentelė 5). Didžiausia AR tarp trijų potipių – 0,030%, laikoma bendra Xpert NPM1 Mutation tyrimo AR.

Kiekybinio įvertinimo riba (KIR) yra mažiausias NPM1 mutacijos/ABL lygis, kurį viršijus mėginius galima kiekybiškai įvertinti su standartiniu nuokrypiu  $\leq 0,36$  log redukcijos (LR), kai vidutinės LR didesnės nei 3,5. Remiantis CLSI EP17-A2<sup>10</sup>, buvo apskaičiuotos ir patvirtintos KIR: 0,025% mutA potipiui, 0,023% mutB potipiui ir 0,030% mutD potipiui (lentelė 5). Didžiausia KIR tarp trijų potipių – 0,030%, laikoma bendra „Xpert NPM1 Mutation“ tyrimo KIR.

Tuščio mėginio riba (TMR) yra didžiausias NPM1 mutacijos/ABL rezultatas, kurio tikimasi iš 95% tuščių mėginių iš tariamai NPM1 mutacijai neigiamų donorų. Remiantis CLSI EP17-A2<sup>10</sup>, „Xpert NPM1 Mutation“ tyrimo TMR buvo apskaičiuota ir patvirtinta: 0,0085% (lentelė 5).

**lentelė 5. Aptikimo riba, kiekybinio įvertinimo riba ir tuščio mėginio riba Xpert NPM1 Mutation tyrimui [% NPM1 mutacijos/ABL]**

Potipis	AR [%NPM1 mutacijos/ABL]	KIR [%NPM1 mutacijos/ABL]	TMR [%NPM1 mutacijos/ABL]
mutA	0,025%	0,025%	0,0085%
mutB	0,023%	0,023%	
mutD	0,030%	0,030%	

## 22.3 Analitinis specifiškumas

Tyrimo Xpert NPM1 Mutation analitinis specifiškumas buvo nustatytas tiriant EDTA apdorotus periferinio kraujo mėginius, paimtus iš dvidešimt penkių sveikų donorų.

Nė viename iš tariamai NPM1 mutacijai neigiamų mėginių, vertintų šioje studijoje, nebuvo gautas rezultatas NPM1 mutacija **APTİKTA** (NPM1 Mutation DETECTED). Dėl to, Xpert NPM1 Mutation tyrimas yra specifiškas NPM1 mutacijos mRNR nuorašams (A, B ir D tipai 12 egzone) susijusiems su ŪML, ir jo analitinis specifiškumas EDTA periferinio kraujo mėginiams yra 100%.

## 22.4 Pernešamo užkrėtimo įvertinimas

Buvo atlikta studija, siekiant parodyti, kad vienkartinės, atskiros GeneXpert kasetės apsaugo nuo pernešamo užkrėtimo iš kasečių, vykdomų nuosekliai tame pačiame prietaiso modulyje. Tariamai NPM1 mutacijai neigiamas mėginys buvo ištirtas po stipriai NPM1 mutacijai teigiamo mėginio tame pačiame GeneXpert modulyje. Tyrimo schema buvo pakartota 10 kartų su dviem GeneXpert moduliais (iš viso 22 neigiami ir 20 teigiamų). Visi teigiamo mėginio vykdymai davė laukiamą rezultatą „NPM1 mutacija **APTİKTA** [#,##%] (NPM1 Mutation DETECTED [#,##%])“, o visi neigiamų mėginių vykdymai davė laukiamą rezultatą „NPM1 mutacija **NEAPTİKTA** [pakankamas ABL nuorašas] (NPM1 Mutation NOT DETECTED [Sufficient ABL transcript])“.

## 22.5 Potencialiai trukdančios medžiagos

Ši studija įvertino penkias medžiagas, kurios gali būti EDTA periferinio kraujo mėginiuose, galinčių trukdyti atlikti tyrimą. Ištirti junginiai ir lygiai (žr. lentelė 6) buvo pagrįsti nurodymais CLSI EP07-ED3<sup>11</sup>. Trukdžiai buvo tiriami EDTA periferinio kraujo mėginiuose, sukurtuose iš kultivuotų NPM1 mutacijai teigiamų ląstelių lizatų, atitinkančių tris lygius: > 1%, 0,1–0,5% ir neigiamą. Kontrolinius tyrimus sudarė tie patys mėginiai be galimai trukdančių medžiagų. Kiekvienas mėginys buvo ištirtas nesant ir esant penkiems atskiriems trukdžiams po 4 pakartojimus kiekvienai sąlygai. Medžiaga buvo laikoma netrukdančia, jei jai esant nustatytas vidutinis procentinis santykis skyrėsi 3 kartus nei kontrolinės medžiagos.

Kliniškai reikšmingo slopinamojo poveikio Xpert NPM1 Mutation tyrimui nepastebėta naudojant nė viena iš šioje studijoje įvertintų trukdančių medžiagų. Nebuvo stebėti statistiškai reikšmingi skirtumai (p-reikšmė < 0,05) bet kuriose tirtose sąlygose, nurodomi tyrimo ir kontrolės sąlygų procentiniai santykiai buvo priimtinos 3 kartų ribose.

**lentelė 6. Ištirtos potencialiai trukdančios medžiagos naudojant Xpert NPM1 Mutation**

Trukdančios medžiagos	Ištirta koncentracija
Nekonjuguotas bilirubinas	20 mg/dl
Cholesterolis, bendras	500 mg/dl
Trigliceridai, iš viso (lipidai)	3000 mg/dl
Heparinas	3500 V/l
EDTA (trumpo trukimo)	930 mg/dl

## 23 Atkuriamumas ir tikslumas

Studija buvo sukurta pagal bendruosius principus, įtvirtintus CLSI EP05-A3 standarte daugiafaktorinėms studijoms. Jis buvo atliktas trijuose centruose. Studijos planas apėmė mėginių skydelio elementus, kuriuose buvo dviejų koncentracijų A, B ir D mutacijos. Septyni skydelio elementai buvo ištirti dviem egzemplioriais, du vykdymus per dieną, iš viso 6 dienas, kiekvieno iš dviejų operatorių trijuose skirtinguose centruose (3 centrai × 2 operatoriai × 3 partijos × 2 dienos × 2 vykdymai × 2 pakartojimai = 144 tyrimo rezultatai / skydelio elementui). Atkuriamumo ir tikslumo skydelius parengė „Cepheid“, juos sudaro septyni skydelio elementai, kaip parodyta lentelė 7. Skydeliai buvo sukurti imituotoje EDTA periferinio kraujo (PB) matricioje.

**lentelė 7. Atkuriamumo ir tikslumo skydeliai**

Skydelio elementas	Taikinys	Lygio procentinis santykis (PS)
1	Neigiamas	NA (NA)
2	NPM1 mutacija A	Vidutiniškai teigiama (~5%)
3	NPM1 mutacija A	Mažai teigiama (~0,2%)
4	NPM1 mutacija B	Vidutiniškai teigiama (~5%)
5	NPM1 mutacija B	Mažai teigiama (~0,2%)
6	NPM1 mutacija D	Vidutiniškai teigiama (~5%)
7	NPM1 mutacija D	Mažai teigiama (~0,2%)

Mėginių su galiojančiais rezultatais skaičius kiekvienam skydelio elementui, kurį išanalizavo kiekvienas iš dviejų operatorių trijuose centruose, pateiktas lentelė 8.

**lentelė 8. Atkuriamumas ir tikslumas: mėginių su teisingais rezultatais skaičius**

Skydelio elementas	1 centras			2 centras			3 centras			Iš viso mėginių
	Op 1	Op 2	Centras	Op 1	Op 2	Centras	Op 1	Op 2	Centras	
1 Neigiamas	24/24 <sup>a</sup>	(24/24)	(48/48) <sup>a</sup>	(24/24) <sup>b</sup>	(24/24)	(48/48) <sup>b</sup>	(24/24)	(24/24)	(48/48)	(144/144)
2 LR1.3: mut A (~5% santykis)	(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% santykis)	(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% santykis)	(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% santykis)	(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% santykis)	(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% santykis)	(24/24)	(24/24)	(48/48)	(24/24) <sup>c</sup>	(24/24)	(48/48) <sup>c</sup>	(24/24)	(24/24)	(48/48)	(144/144)

<sup>a</sup> Dviejų neigiamų mėginių rezultatai buvo tinkami, bet aptikti (false positive, FP)

<sup>b</sup> Vieno neigiamo mėginio rezultatai buvo tinkami, bet aptikti (FP)

<sup>c</sup> Vienas LR 2.7: mut D (~0,2% santykis) mėginys turėjo tinkamą, bet neaptiktą rezultatą (false negative, FN)

Kiekybiniai rezultatai buvo analizuojami naudojant įdėtąją dispersijos analizę (ANOVA) su atsitiktiniais efektais ir variacijos koeficientu (VK). Kiekvieno teigiamo mėginio standartinio nuokrypio ir dispersijos ANOVA skaičiavimų rezultatai pateikti lentelė 9. Kiekvieno komponento (centro/prietaiso, operatoriaus, partijos, dienos, vykdymo) dispersija ir procentas nuo bendros dispersijos nurodomas kaip SN ir kiekvieno komponento procentinė dalis.

**lentelė 9. Variacijos koeficiento (VK) rezultatai: procentinis santykis (PS)**

Skydelio elementas	N	Vidurkis	Centras		Op		Partija (Lot)		Diena		Vykdymas		Analizės metu		Iš viso	
			SN	VK (%)	SN	VK (%)	SN	VK (%)	SN	VK (%)	SN	VK (%)	SN	VK (%)	SN	VK (%)
LR1.3: mut A (~5% santykis)	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% santykis)	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% santykis)	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% santykis)	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% santykis)	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% santykis)	143 <sup>a</sup>	0,2%	0,00	10,86	0,00	0,00	0,00	12,91	0,00	6,77	0,00	0,00	0,00	22,83	0,00	29,18

<sup>a</sup> Vieno mėginio „Xpert NPM1“ neaptiko ir jis buvo pašalintas iš analizės, nes nebuvo atliktas kiekybinis įvertinimas.

Vidutiniškai teigiamų mėginių LR1.3: mut A, mut B ir mut D (~5% santykis) procentinio santykio suminis variacijos koeficientas (VK) svyravo nuo 21,74 iki 26,23, o mažai teigiamų mėginių LR2.7: mut A, mut B ir mut D (~0,2% santykis) svyravo nuo 20,68 iki 79,22.

## 24 Nuorodos

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>. Žiūrėta 2020 m. rugsėjo 16 d.
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 (žr. naujausią leidimą). <http://www.cdc.gov/biosafety/publications/>
7. Clinical and Laboratory Standards Institute. Protection of Laboratory Workers from Occupationally Acquired Infections; Approved Guideline. Dokumentas M29 (žr. naujausią leidimą).
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 „Cepheid“ pagrindinių būstinių adresai

### Bendrovės būstinė

Cepheid  
904 Caribbean Drive  
Sunnyvale, CA 94089  
USA

Telefonas: + 1 408 541 4191  
Faksas: + 1 408 541 4192  
www.cepheid.com

### Būstinė Europoje

Cepheid Europe SAS  
Vira Solelh  
81470 Maurens-Scopont  
France

Telefonas: + 33 563 825 300  
Faksas: + 33 563 825 301  
www.cepheidinternational.com

## 26 Techninė pagalba

Prieš susisiekdami su „Cepheid“ technine pagalba, pasiruoškite šią informaciją:

- Produkto pavadinimas
- Partijos numeris
- Prietaiso serijos numeris
- Klaidų pranešimai (jeigu yra)
- Programinės įrangos versija ir, jei taikoma, kompiuterio techninės priežiūros kodas

### Jungtinės Amerikos Valstijos





















Telefonas: + 1 888 838 3222  
El. paštas: techsupport@cepheid.com

### Prancūzija

Telefonas: + 33 563 825 319  
El. paštas: support@cepheideurope.com

Visų „Cepheid“ techninės pagalbos padalinių kontaktinę informaciją galima rasti mūsų svetainėje: [www.cepheid.com/en\\_US/support/contact-us](http://www.cepheid.com/en_US/support/contact-us).

## 27 Simbolių lentelė

Simbolis	Reikšmė
	Katalogo numeris
	Žymėjimas CE ženklu – Europos atitiktis
	<i>In vitro</i> diagnostinė medicinos priemonė
	Partijos kodas
	Nenaudoti pakartotinai
	Žr. naudojimo instrukcijas
	Gamintojas
	Gamybos šalis
	Pakanka šiam skaičiui tyrimų: $n$
	Kontrolė
	Galiojimo pabaigos data
	Temperatūros apribojimas
	Biologinė rizika
	Dėmesio
	Degūs skysčiai
	Toksinis poveikis reprodukcijai ir organams
	Atsargiai
	Igaliotasis atstovas Europos Bendrijoje
	Igaliotasis atstovas Šveicarijoje
	Importuotojas



„Cepheid“  
904 Caribbean Drive  
Sunnyvale, CA 94089  
JAV  
Telefonas: + 1 408 541 4191  
Faksas: + 1 408 541 4192



„Cepheid Europe SAS“  
Vira Solelh  
81470 Maurens-Scopont  
Prancūzija  
Telefonas: + 33 563 825 300  
Faksas: + 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 Pakeitimų istorija

Skyrius	Pakeitimo aprašymas
23	Ištaisyta skyriaus „Atkuriamumas ir tikslumas“ klaida.