

# Xpert<sup>®</sup> NPM1 Mutation

**REF** GXNPM1-CE-10

**Instrucțiuni de utilizare**

**IVD** CE

## **Declarații privind mărci comerciale, brevete și drepturi de autor**

### **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>, sigla Cepheid, GeneXpert<sup>®</sup> și Xpert<sup>®</sup> sunt mărci comerciale ale Cepheid, înregistrate în SUA și în alte țări. Toate celelalte mărci comerciale sunt proprietatea deținătorilor respectivi.

ACHIZIȚIA ACESTUI PRODUS TRANSMITE CUMPĂRĂTORULUI DREPTUL NETRANSFERABIL DE A-L UTILIZA ÎN CONFORMITATE CU ACESTE INSTRUCȚIUNI DE UTILIZARE. NICIUN FEL DE ALTE DREPTURI NU SUNT TRANSMISE ÎN MOD EXPRES, ÎN MOD IMPLICIT SAU PRIN ÎMPIEDICAREA INTENTĂRII UNEI ACȚIUNI. MAI MULT, NICIUN DREPT DE REVÂNZARE NU SE CONFERĂ ÎMPREUNĂ CU ACHIZIȚIA ACESTUI PRODUS.

© 2022–2023 Cepheid.

Consultați Secțiunea 28, Istoricul revizuirilor pentru o descriere a modificărilor.

# Xpert<sup>®</sup> NPM1 Mutation

---

Utilizare pentru diagnosticare *in vitro*

## 1 Denumire brevetată

Xpert<sup>®</sup> NPM1 Mutation

## 2 Denumire comună sau obișnuită

Xpert NPM1 Mutation

## 3 Scopul preconizat

### 3.1 Utilizare preconizată

Testul Xpert NPM1 Mutation, efectuat pe GeneXpert<sup>®</sup> Dx System Cepheid, este un test de diagnosticare *in vitro* pentru cuantificarea transcripților ARNm NPM1 mutante (tipurile A, B și D în exonul 12) din specimene de sânge periferic de la pacienți cu leucemie mieloidă acută (LMA). Testul folosește reacția de polimerază în lanț cu transcripție inversă în timp real (RT-PCR) și raportează raportul procentual al transcripților ARNm pentru controlul endogen NPM1 mutant până la ABL1. Testul este destinat să fie un ajutor în monitorizarea pacienților cu LMA cu mutație NPM1 pentru nivelul de transcript ARNm NPM1 mutant. Testul trebuie utilizat împreună cu alți factori clinico-patologici.

Testul Xpert NPM1 Mutation nu realizează diferențierea între transcripțiile NPM1 mutant de tip A, B sau D și nu detectează sau monitorizează alte tipuri rare de NPM1 mutant. Acest test nu are ca scop diagnosticarea LMA.

### 3.2 Utilizator/Mediu prevăzut

Testul Xpert NPM1 Mutation este destinat pentru a fi utilizat de către utilizatori instruiți într-un mediu de laborator.

## 4 Rezumat și explicații

Leucemia mieloidă acută (LMA) este un tip de cancer al celulelor stem hematopoietice sanguine mieloidă din măduva osoasă<sup>1,2</sup> și este cunoscută ca având diferite mutații ale nucleofosminei (NPM1) de pe exonul 12<sup>3</sup>. Introducerea de nucleotide în exonul 12 determină mutații ale secvențelor și creează un semnal de export nuclear (NES). Mutațiile de la nivelul genei NPM1 duc la localizarea citoplasmică aberantă a NPM1 și proteinelor care interacționează cu NPM1. NPM1 este una dintre genele cu cele mai multe mutații ale LMA, iar mutațiile apar în 28% până la 35% din toate cazurile de LMA. În timp ce în prezent mai multe medicamente care vizează NPM1 mutant sunt în curs de investigare, momentan nu există nicio terapie țintită aprobată de FDA.<sup>4</sup>

Gena NPM1 codifică proteina transportoare nucleară care are rol în biologia centrozomului și ribozomului, precum și în reglementarea altor sisteme celulare, inclusiv căile supresoare tumorale. NPM1 este o fosfoproteină nucleolară care servește drept transportor între nucleu și citoplasmă. Aceasta reglementează transportul particulelor ribozomale prin membrana nucleară. Mutațiile NPM1 au fost descoperite inițial la persoanele cu LMA în urma observării localizării citoplasmice anormale și nu a localizării nucleare normale. Evaluarea genetică a celulelor blastice leucemice combinată cu localizarea NPM1 citoplasmice a dus la determinarea mutațiilor de secvențe cunoscute pe exonul 12.<sup>3</sup> Cele mai frecvente mutații NPM1 sunt de tip A (~75-80%), tip B (~10%) și tip D (~5%), toate pe exonul 12, care duc la mutații de secvențe de la introducerea a 4 nucleotide. Mutația determină o pierdere a semnalului de localizare nucleolar și o localizarea citoplasmică aberantă a proteinei la pacienții cu LMA.<sup>5</sup>

## 5 Principiul procedurii

Testul Xpert NPM1 Mutation este o analiză automată pentru cuantificarea volumului de transcripturi de mutație NPM1 sub formă de raport între mutația NPM1/ABL1. Testul este efectuat pe Cepheid de la GeneXpert Dx System, care automatizează și integrează purificarea probei, amplificarea acidului nucleic și detectarea secvenței țintă în probe simple sau complexe, utilizând RT-PCR în timp real și analize PCR imbricate. Sistemul constă dintr-un instrument, un computer și software preîncărcat pentru rularea analizelor și vizualizarea rezultatelor. Sistemul necesită utilizarea de cartușe GeneXpert consumabile, de unică folosință care conțin reactivi RT-PCR și PCR imbricați și găzduiesc procesele RT-PCR și PCR imbricate. Pentru o descriere completă a sistemului, consultați corespunzător *GeneXpert Dx System Operator Manual*.

Testul Xpert NPM1 Mutation include reactivi pentru detectarea mutației NPM1 și a transcriptului ABL1 sub formă de control endogen în probele de sânge periferic. Volumul de transcript de mutație NPM1 este cuantificat sub formă de raport procentual între mutația NPM1/ABL1. Sunt incluse 2 controale în testul Xpert NPM1 Mutation – controlul endogen (ABL1) și un control al verificării sondei (PCC). Controlul endogen ABL1 normalizează ținta mutației NPM1 și asigură utilizarea unei probe suficiente în analiză. PCC verifică rehidratarea reactivului, umplerea eprubetei PCR, precum și prezența și funcționalitatea tuturor componentelor de reacție, inclusiv a sondelor și a coloranților, în cartuș.

## 6 Reactivi și instrumente

### 6.1 Materiale furnizate

Trusa Xpert NPM1 Mutation (GXNPM1-CE-10) conține reactivi suficienți pentru procesarea a 10 probe sau probe de control al calității. Trusa conține următoarele:

#### Xpert NPM1 Mutation Reactivi 10 din fiecare per trusă

<b>Proteinază K (PK)</b>	<b>10 x 130 µl per flacon</b>
<b>Componentă</b>	<b>Ingredient reactiv</b>
Proteinază K	< 5%

<b>Reactiv de liză (LY) (clorură de guanidiniu)</b>	<b>10 x 5,3 ml per flacon</b>
<b>Componentă</b>	<b>Ingredient reactiv</b>
Clorură de guanidiniu	25 - 50%
Uree	25 - 50%
Dodecilsulfat de sodiu	< 2%

<b>Reactiv de spălare</b>	<b>10 x 2,9 ml per ampulă</b>
<b>Componentă</b>	<b>Ingredient reactiv</b>
Etanol	< 50%
Tiocianat de guanidină	< 50%

Xpert NPM1 Mutation Cartușe cu eprubete de reacție integrate		10 per trusă
Componentă	Ingredient reactiv	Cantitate
Picătura 1 (liofilizată)	Enzimă: Taq ADN polimerază < 50 U/ picătură	1 per cartuș
	dNTPs < 0,05%	
Picătura 2 (liofilizată)	Amorse și sonde < 0,005%	1 per cartuș
Picătura 3 (liofilizată)	Amorse și sonde < 0,005%	1 per cartuș
Picătura 4 (liofilizată)	Enzimă: Taq ADN polimerază < 50 U/ picătură	1 per cartuș
	dNTPs < 0,05%	
Reactiv de clătire	Clorură de potasiu < 4%	2 ml per cartuș
	Azidă de sodiu < 0,1%	
	Polietilen glicol < 40%	
	Tween 20 < 0,2%	
Reactiv de eluție	Bază Trizma < 0,3%	2,5 ml per cartuș
	Clorhidrat Trizma < 0,1%	
	Azidă de sodiu < 0,05%	

**CD****1 per trusă**

- Fișier de definiție a analizei (ADF)
- Instrucțiuni de importare a ADF în software-ul GeneXpert
- Instrucțiuni de utilizare (IDU)

**Notă**

Albumina serică bovină (BSA) din picăturile din cadrul acestui produs a fost produsă și fabricată exclusiv din plasma bovină provenită din Statele Unite. Nicio proteină de la animale rumegătoare sau proteină de la alt animal nu a fost oferită ca hrană animalelor; animalele au trecut testarea ante- și post-mortem. În timpul procesării, nu s-a amestecat materialul cu alte materiale de origine animală.

**Notă**

CertIFICATELE DE ANALIZĂ ȘI FIȘELE CU DATE PRIVIND SPECIFICAȚIILE LOTULUI SUNT DISPONIBILE PRIN INTERMEDIUL ASISTENȚEI TEHNICE CEPHEID.

## 7 Materiale necesare, dar care nu sunt furnizate

- GeneXpert Dx System (numărul de catalog variază în funcție de configurație): instrument GeneXpert, computer, scanner de coduri de bare și manualul operatorului.
- Pentru GeneXpert Dx System: versiunea software GeneXpert Dx 6.2 sau ulterioară.
- Imprimantă: Dacă este necesară o imprimantă, contactați Asistența tehnică Cepheid pentru a lua măsuri pentru achiziționarea unei imprimante recomandate.
- Mixer centrifugațional
- Microcentrifugă (minimum 1000 x g)
- Pipete și vârfuri de pipetă cu filtru de aerosoli
- Eprubete conice de 50 ml
- Etanol absolut de grad reactiv
- 1X PBS, pH 7,4

## 8 Depozitare și manipulare

- Depozitați conținutul trusei Xpert NPM1 Mutation la 2 °C – 8 °C până la data de expirare înscrisă pe etichetă.
- Nu deschideți capacul cartușului până când nu sunteți gata să efectuați testul.
- Nu utilizați cartușe care au depășit data de expirare.
- Nu utilizați un cartuș care s-a scurs.
- Reactivul de spălare este un lichid limpede, incolor. Nu utilizați reactivul de spălare dacă a devenit tulbure sau s-a decolorat.
- Cu 20 (douăzeci) de minute înainte de începerea procedurii, scoateți proba de sânge, cartușul și reactivii de preparare a probei din depozit pentru a le permite să ajungă la temperatura camerei (20 – 30 °C).

## 9 Atenționări și măsuri de precauție

### 9.1 Aspecte generale

- Utilizare pentru diagnosticare *in vitro*.
- Tratați toate probele biologice, inclusiv cartușele utilizate și reactivii, ca și cum ar putea să transmită agenți infecțioși. Deoarece este adesea imposibil să se știe care ar putea fi infecțioase, toate probele biologice trebuie tratate cu măsuri de precauție standard.
- Îndrumările pentru manipularea probelor sunt disponibile de la Centrele S.U.A. pentru Controlul și Prevenirea Bolilor<sup>6</sup> și de la Institutul de Standarde Clinice și de Laborator.<sup>7</sup>
- Urmați procedurile de siguranță stabilite de instituția dumneavoastră pentru lucrul cu substanțe chimice și pentru manipularea probelor biologice.
- Caracteristicile de performanță ale acestui test au fost stabilite numai cu sânge colectat în eprubete EDTA. Funcția de analiză nu a fost evaluată cu alte tipuri de probă.
- Rezultatele fiabile depind de operațiunile corespunzătoare de colectare, transportare, depozitare și procesare a probelor. Rezultatele incorecte ale analizei pot apărea în urma colectării, manipulării sau depozitării inadecvate a probei, a unei erori tehnice, a încurcării probelor sau din cauză că transcriptul țintă din probă este sub limita de detecție a analizei. Este necesară respectarea cu atenție a instrucțiunilor de utilizare și *GeneXpert Dx System Operator Manual* pentru a evita rezultatele eronate.
- Efectuarea testului Xpert NPM1 Mutation în afara trusei recomandate și a intervalelor recomandate pentru timpul și temperatura de depozitare a probei poate produce rezultate eronate sau nevalide.
- Probele biologice, dispozitivele de transfer și cartușele utilizate trebuie să fie considerate că pot să transmită agenți infecțioși care necesită măsuri de precauție standard. Urmați procedurile instituției dumneavoastră privind eliminarea la deșeurii pentru eliminarea corespunzătoare a cartușelor utilizate și a reactivilor neutilizați. Aceste materiale pot prezenta caracteristici specifice deșeurilor chimice periculoase care necesită proceduri de eliminare naționale sau regionale specifice. În cazul în care reglementările naționale sau regionale nu oferă instrucțiuni clare privind eliminarea corespunzătoare, probele biologice și cartușele utilizate trebuie eliminate la deșeurii conform îndrumărilor OMS [Organizația Mondială a Sănătății] privind manipularea și eliminarea deșeurilor medicale.<sup>8</sup>

### 9.2 Specimen

- Respectați condițiile de depozitare corespunzătoare pentru a asigura integritatea probei (consultați Secțiunea 11, Colectarea și depozitarea specimenului). Stabilitatea specimenului în alte condiții de expediere decât cele recomandate nu a fost evaluată.
- Nu congelați specimenul de sânge periferic EDTA.
- Colectarea, depozitarea și transportul corespunzătoare ale specimenelor sunt esențiale pentru obținerea unor rezultate corecte.


### 9.3 Test/Reactiv

- Nu înlocuiți reactivii Xpert NPM1 Mutation cu alți reactivi.
- Nu deschideți capacul cartușului Xpert NPM1 Mutation decât atunci când adăugați probă și reactiv de spălare.
- Nu utilizați un cartuș care a fost scăpat după ce l-ați scos din ambalaj.
- Nu agitați cartușul. Agitarea sau scăparea cartușului după deschiderea capacului cartușului poate produce rezultate nevalide.

- Nu puneți eticheta cu ID-ul probei pe capacul cartușului sau peste eticheta cu cod de bare a cartușului.
- Nu utilizați un cartuș care are etichetă cu cod de bare deteriorată.
- Nu utilizați un cartuș care are o eprubetă de reacție deteriorată.
- Se recomandă ca cartușele Xpert NPM1 Mutation să fie la temperatura camerei (între 20 °C și 30 °C) atunci când se utilizează pentru testare.
- Fiecare cartuș de unică folosință Xpert NPM1 Mutation este utilizat pentru a procesa o analiză. Nu reutilizați cartușele procesate.
- Transferați întregul conținut al unei (1) ampule de reactiv de spălare în compartimentul pentru reactiv de spălare. Dacă se omite adăugarea reactivului de spălare se poate genera un rezultat **NEDETECTAT (NOT DETECTED)**.
- Nu reutilizați vârful de pipetă.
- Nu utilizați un cartuș dacă acesta pare ud sau dacă sigiliul capacului pare să fi fost rupt.
- Nu utilizați cartușul Xpert NPM1 Mutation dacă se adaugă un reactiv în deschiderea greșită.
- Nu deschideți cartușele Xpert NPM1 Mutation după finalizarea analizei.
- Dedicăți un set de pipete și reactivi exclusiv preparării probelor.
- Purtați halate și mănuși de laborator curate. Schimbați mănușile după manipularea fiecărei probe.
- În cazul unei scurgeri de probe sau controale, purtați mănuși și absorbiți scurgerea cu prosoape de hârtie. Apoi, curățați bine zona contaminată cu o diluție 1:10 de înălbitor de clor de uz casnic proaspăt preparat. Concentrația finală de clor activ trebuie să fie de 0,5%, indiferent de concentrația de înălbitor de uz casnic din țara dumneavoastră. Lăsați minimum două minute de contact.
- Asigurați-vă că zona de lucru este uscată înainte de a utiliza etanol denaturat 70% pentru a îndepărta reziduurile de înălbitor. Lăsați suprafețele să se usuce complet înainte de a continua. Alternativ, urmați procedurile standard ale instituției dvs. pentru un eveniment de contaminare sau de scurgere. În ceea ce privește echipamentele, urmați recomandările producătorului pentru decontaminare.

## 10 Pericole chimice

**Notă** Informațiile de mai jos se aplică întregului produs care conține reactivi de protează K, liză, spălare și clătire.

- Pictogramă de pericol CLP/GHS: 
- Cuvânt de semnal: PERICOL
- **Declarații de pericol ONU GHS**
  - Lichid și vapori foarte inflamabili H225.
  - Provoacă iritarea pielii H315.
  - Provoacă o iritare gravă a ochilor H319.
  - Poate provoca somnolență sau amețeală H336.
  - Susceptibil de a genera defecte genetice H341.
- **Declarații de precauție ONU GHS**
  - **Măsuri de prevenire**
    - Consultați fișa cu date de securitate pentru instrucțiuni speciale înainte de utilizare.
    - Procurați instrucțiuni speciale înainte de utilizare.
    - A nu se manipula decât după ce au fost citite și înțelese toate măsurile de securitate.
    - A se păstra departe de surse de căldură, scânteii, flăcări deschise și/sau suprafețe încinse. Fumatul interzis.
    - Păstrați recipientul închis etanș.
    - Evitați să respirați ceața/vaporii/spray-ul.
    - Spălați-vă bine după utilizare.
    - A se utiliza numai în aer liber sau în spații bine ventilate.
    - Purtați mănuși de protecție/îmbrăcăminte de protecție/echipament de protecție a ochilor/echipament de protecție a feței.
    - Utilizați echipamentul de protecție individuală conform cerințelor.
  - **Răspuns**
    - În caz de INCENDIU: Utilizați mijloace adecvate pentru stingere.
    - ÎN CAZ DE INHALARE: Transportați victima la aer liber și mențineți-o în stare de repaus într-o poziție confortabilă pentru respirație.
    - Sunați la un CENTRU DE INFORMARE TOXICOLOGICĂ sau un medic, dacă nu vă simțiți bine.

- ÎN CAZ DE CONTACT CU PIELEA (sau părul): Scoateți imediat toată îmbrăcămintea contaminată. Clătiți pielea cu apă/faceți duș.
- Tratament specific, consultați informațiile privind măsurile suplimentare de prim ajutor.
- Scoateți îmbrăcămintea contaminată și spălați-o înainte de reutilizare.
- În caz de iritare a pielii: Consultați medicul/solicitați asistență medicală.
- ÎN CAZ DE CONTACT CU OCHII: Clătiți cu atenție cu apă, timp de mai multe minute. Scoateți lentilele de contact, dacă există și dacă sunt ușor de scos. Continuați să clătiți.
- Dacă iritarea ochilor persistă: Consultați medicul/solicitați asistență medicală.
- În caz de expunere sau de posibilă expunere: Consultați medicul/solicitați asistență medicală.
- **Depozitare/Eliminare**
  - A se păstra la rece.
  - A se depozita într-un spațiu bine ventilat.
  - Păstrați recipientul închis etanș.
  - A se depozita sub cheie.
  - Eliminați conținutul și/sau recipientul în conformitate cu reglementările locale, regionale, naționale și/sau internaționale.

## 11 Colectarea și depozitarea specimenelor

- Specimenele de sânge periferic trebuie colectate în eprubete EDTA respectând liniile directoare ale instituției dumneavoastră. Plasma nu trebuie separată de celule.
- Specimenele trebuie depozitate între 2 °C și 8 °C timp de cel mult 3 zile (72 de ore) înainte de testare.
- Colectarea și depozitarea corespunzătoare ale specimenelor sunt esențiale pentru funcționarea analizei. Stabilitatea specimenului în alte condiții de depozitare decât cele enumerate în Secțiunea 12, procedura de mai jos nu a fost evaluată cu testul Xpert NPM1 Mutation.

## 12 Procedură

### 12.1 Înainte de a începe

Cu 20 (douăzeci) de minute înainte de începerea procedurii, scoateți proba de sânge, reactivii de preparare a probei și cartușele din depozitul frigorific pentru a le permite să ajungă la temperatura camerei. Amestecați pentru scurt timp Proteinaza K (PK) într-o microcentrifugă.

---

**Important** Începeți analiza în decurs de 1 oră de la adăugarea în cartuș a probei tratate cu reactiv de probă.

---

**Important** Scoateți cartușul din ambalajul de carton înainte de prepararea probei. (Consultați Secțiunea 12.3, Prepararea cartușului).

---

### 12.2 Prepararea probei

#### 12.2.1 Prepararea probei cu un număr necunoscut de leucocite (WBC) sau probe cu mai puțin de 30 de milioane de leucocite/ml

1. Adăugați 100 μl de Proteinază K (PK) în partea de jos a unei eprubete conice noi, etichetate, de 50 ml.
2. Asigurați-vă că proba de sânge este bine amestecată, inversând eprubeta de colectare a sângelui de 8 ori imediat înainte de pipetare. Consultați instrucțiunile producătorului pentru eprubeta de colectare a sângelui EDTA.
3. În eprubeta care conține deja PK, adăugați 4 ml de probă de sânge.
4. Amestecați proba cu un mixer centrifugațional la setarea maximă în mod continuu timp de 3 secunde.
5. Incubați timp de 1 minut la temperatura camerei.
6. Adăugați 2,5 ml de reactiv de liză (LY) în aceeași eprubetă.

---

**Notă** Păstrați reactivul de liză rămas pentru a fi utilizat din nou în pasul 13.

---



7. Amestecați proba cu un mixer centrifugațional la setarea maximă în mod continuu timp de 10 secunde.
8. Incubați timp de 5 minute la temperatura camerei.
9. Amestecați proba cu un mixer centrifugațional la setarea maximă în mod continuu timp de 10 secunde.
10. Incubați timp de 5 minute la temperatura camerei.
11. Amestecați proba bătând ușor în partea inferioară a eprubetei de 10 ori.
12. Transferați 1 ml de lizat preparat într-o eprubetă conică nouă, etichetată, de 50 ml.

**Notă**

Lizatul rămas poate fi păstrat între 2 °C și 8 °C timp de până la 48 ore sau depozitat la -20 °C sau o temperatură mai scăzută timp de până la 1 lună.

13. În noua eprubetă conică care conține lizat, adăugați 1,5 ml de LY păstrat de la pasul 6.
14. Amestecați proba cu un mixer centrifugațional la setarea maximă în mod continuu timp de 10 secunde.
15. Incubați timp de 10 minute la temperatura camerei.
16. Adăugați 2 ml de etanol absolut de grad reactiv (furnizat de utilizator) în aceeași eprubetă conică.
17. Amestecați proba cu un mixer centrifugațional la setarea maximă în mod continuu timp de 10 secunde. Puneți deoparte.
18. Eliminați reactivii PK sau LY rămași.

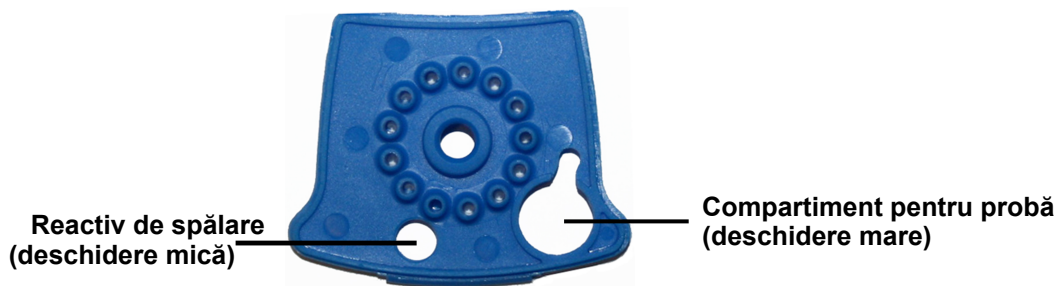
**12.2.2 Pregătirea probei cu număr de leucocite egal cu sau mai mare decât 30 milioane leucocite/ml**

1. Adăugați 100 µl de PK în partea de jos a unei eprubete conice noi de 50 ml.
2. Asigurați-vă că proba de sânge este bine amestecată, inversând eprubeta de colectare a sângelui de 8 ori imediat înainte de pipetare. Consultați instrucțiunile producătorului pentru eprubeta de colectare a sângelui EDTA.
3. În eprubeta care conține deja PK, adăugați 250 µl de probă de sânge și 3,75 ml de 1xPBS (pH 7,4, furnizat de utilizator).
4. Amestecați proba cu un mixer centrifugațional la setarea maximă în mod continuu timp de 3 secunde.
5. Incubați timp de 1 minut la temperatura camerei.
6. Urmați pașii 6-17 din Secțiunea 12.2.1 pentru a prepara lizatul final.
7. Eliminați reactivii PK sau LY rămași.

**12.3 Pregătirea cartușului**

Pentru adăugarea probei la cartușul Xpert NPM1 Mutation:

1. Scoateți cartușul din ambalajul de carton.
2. Inspectați pentru a vedea dacă cartușul nu este deteriorat. Dacă este deteriorat, nu îl utilizați.
3. Deschideți cartușul ridicând capacul și transferați întregul conținut al unei (1) ampule de reactiv de spălare în compartimentul pentru reactiv de spălare (cu deschidere mică). Consultați Figura 1.
4. Pipetați întregul conținut al probei preparate (4,5 ml) în compartimentul pentru probă (deschidere mare). Consultați Figura 1.



**Figura 1. Xpert NPM1 Mutation Cartuș (vedere de sus)**

5. Închideți capacul cartușului. Asigurați-vă de fixarea fermă a capacului în poziție. Începeți analiza (consultați Secțiunea 12.4, Inițierea analizei).

## 12.4 Inițierea analizei

**Important** Înainte de a începe analiza, asigurați-vă că sistemul rulează software-ul GeneXpert Dx versiunea 6.2 sau ulterioară și că fișierul corect de definiție a analizei este importat în software. Această secțiune enumeră pașii implicați pentru utilizarea GeneXpert Dx System.

**Notă** Pașii de urmat pot fi diferiți în cazul în care administratorul sistemului a modificat fluxul de lucru implicit al sistemului.

1. Porniți sistemul GeneXpert pornind mai întâi instrumentul GeneXpert Dx și apoi pornind computerul. Software-ul GeneXpert Dx se va lansa automat sau poate fi necesar să faceți dublu clic pe pictograma de comandă rapidă a software-ului GeneXpert Dx de pe desktopul Windows®.
2. Conectați-vă la software-ul sistemului GeneXpert utilizând numele de utilizator și parola dumneavoastră.
3. În fereastra **Sistemul GeneXpert (GeneXpert System)**, faceți clic pe **Creare test (Create Test)** (GeneXpert Dx). Se deschide fereastra **Creare test (Create Test)**.
4. Scanați sau tastați ID-ul pacientului (Patient ID). Dacă tastați ID-ul pacientului (Patient ID), asigurați-vă că ID-ul pacientului (Patient ID) este tastat corect. ID-ul pacientului este asociat cu rezultatele testului și este afișat în fereastra **Vizualizare rezultate (View Results)** și în toate rapoartele. Se deschide caseta de dialog **Scanare cod de bare ID probă (Scan Sample ID barcode)**.
5. Scanați sau tastați ID-ul probei (Sample ID). Dacă tastați ID-ul probei (Sample ID), asigurați-vă că ID-ul probei (Sample ID) este tastat corect. ID-ul probei este afișat în partea stângă a ferestrei **Vizualizare rezultate (View Results)** și în toate rapoartele. Se deschide caseta de dialog **Scanare cod de bare cartuș (Scan Cartridge Barcode)**.
6. Scanați codul de bare al cartușului Xpert NPM1 Mutation. Utilizând informațiile despre codul de bare, software-ul umple automat casetele pentru următoarele câmpuri: ID lot reactiv (Reagent Lot ID), Nr. serie cartuș (Cartridge SN) și Data de expirare (Expiration Date).

**Notă** Dacă codul de bare de pe cartușul Xpert NPM1 Mutation nu se scanează, repetați analiza cu un cartuș nou. Dacă ați scanat codul de bare al cartușului în software și fișierul de definiție a analizei nu este disponibil, va apărea un ecran care indică faptul că fișierul de definiție a analizei nu este încărcat în sistem. Dacă apare acest ecran, contactați Serviciul de asistență tehnică Cepheid.

7. Faceți clic pe **Inițiere test (Start Test)**. Este posibil să trebuiască să tastați parola în caseta de dialog care se afișează.
8. Deschideți ușa modulului instrumentului cu indicatorul luminos verde care luminează intermitent și încărcați cartușul.
9. Închideți ușa. Testul începe și indicatorul luminos verde încetează să lumineze intermitent. Atunci când analiza este finalizată, indicatorul luminos se stinge.
10. Așteptați până când sistemul eliberează dispozitivul de blocare a ușii înainte de a deschide ușa modulului și de a îndepărta cartușul.
11. Eliminați la deșeu cartușele utilizate în recipientul corespunzător pentru astfel de deșeu, în conformitate cu practicile standard ale instituției dumneavoastră.

**Notă** Timpul necesar pentru obținerea rezultatului este mai scurt de 3 ore (aproximativ 30 minute de la pregătirea probei în afara instrumentului și mai puțin de 2,5 ore ca timp de rulare a analizei).

---

---

## 13 Vizualizarea și tipărirea rezultatelor

Această secțiune enumeră pașii de bază pentru vizualizarea și tipărirea rezultatelor. Pentru instrucțiuni mai detaliate privind vizualizarea și tipărirea rezultatelor, consultați *GeneXpert Dx System Operator Manual*.

- Faceți clic pe pictograma **Vizualizare rezultate (View Results)** pentru a vizualiza rezultatele.
- La finalizarea analizei, faceți clic pe butonul **Raport (Report)** din ecranul **Vizualizare rezultate (View Results)** pentru a vizualiza și/sau pentru a genera un fișier de raport PDF.

## 14 Controlul calității

Fiecare cartuș include un control endogen ABL1 și un control al verificării sondei (PCC).

**Controlul endogen ABL1** — Controlul endogen ABL1 verifică dacă este utilizată suficientă probă împreună cu analiza. În plus, acest control detectează inhibarea asociată probei a testului PCR în timp real. ABL1 reușește dacă îndeplinește criteriile de acceptare alocate.

**Controlul verificării sondei (PCC)** — Înainte de începerea reacției PCR, sistemul GeneXpert măsoară semnalul de fluorescență de la sonde pentru a monitoriza rehidratarea picăturii, umplerea eprubetei de reacție și dacă toate componentele de reacție sunt funcționale în cartuș. PCC reușește dacă îndeplinește criteriile de acceptare alocate.

## 15 Interpretarea rezultatelor

Rezultatele sunt interpretate automat de sistemul GeneXpert din semnale fluorescente măsurate și algoritmi de calcul încorporați și sunt afișate în fereastra Vizualizare rezultate (View Results). Posibilele rezultate și interpretări sunt afișate în Tabelul 1.

Tabelul 1. Xpert NPM1 Mutation Rezultatele și interpretarea testului

Rezultat	Interpretare
<b>Mutație NPM1 DETECTATĂ (NPM1 Mutation DETECTED)</b> Consultați Figura 2, Figura 3, Figura 4	<p>S-a detectat transcriptul mutației NPM1.</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>Mutație NPM1 DETECTATĂ (NPM1 Mutation DETECTED) – transcriptul mutației NPM1 a fost detectat și are un prag de ciclu (Ct) în intervalul valabil și un punct final peste setarea pragului.</li> <li>Posibile rezultate detectate:               <ul style="list-style-type: none"> <li>MUTAȚIE NPM1 DETECTATĂ [#.,###%] (NPM1 MUTATION DETECTED [#.,###%]); Figura 2.</li> <li>MUTAȚIE NPM1 DETECTATĂ [Peste LoQ superioară] (NPM1 MUTATION DETECTED [Above upper LoQ]); Figura 3.</li> <li>MUTAȚIE NPM1 DETECTATĂ [Sub LoD; &lt; #.,###%] (NPM1 MUTATION DETECTED [Below LoD; &lt; #.,###%]); Figura 4.</li> </ul> </li> <li>ABL REUȘITĂ (ABL PASS) – transcriptul ABL a fost detectat și are un prag de ciclu (Ct) în intervalul valabil și un punct final peste setarea pragului.</li> <li>Verificarea sondei REUȘITĂ (PASS) – toate rezultatele verificării sondei au reușit.</li> </ul>
<b>Mutație NPM1 NEDETECTATĂ (NPM1 Mutation NOT DETECTED)</b> Consultați Figura 5	<p>Nu s-a detectat transcriptul mutației NPM1.</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>Mutație NPM1 NEDETECTATĂ [Transcript ABL suficient] (NPM1 Mutation NOT DETECTED [Sufficient ABL transcript]) – transcriptul mutației NPM1 nu a fost detectat și are un prag de ciclu (Ct) zero sau peste capătul superior al intervalului valid și/sau un punct final sub setarea pragului.</li> <li>ABL REUȘITĂ (ABL PASS) – transcriptul ABL a fost detectat și are un prag de ciclu (Ct) în intervalul valabil și un punct final peste setarea pragului.</li> <li>Verificarea sondei REUȘITĂ (PASS) – toate rezultatele verificării sondei au reușit.</li> </ul>
<b>NEVALID (INVALID)</b> Consultați Figura 6, Figura 7, Figura 8, Figura 9, Figura 10	<p>Nivelul transcriptului mutației NPM1 nu poate fi determinat deoarece proba conține un transcript al mutației NPM1 și/sau transcript ABL în exces sau insuficient. Consultați Secțiunea 18, Ghid de depanare, pentru instrucțiuni suplimentare privind retestarea probei.</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>Pragul de ciclu (Ct) pentru mutația NPM1 NEVALIDĂ - ciclu NPM1 (NPM1 Mutation INVALID– NPM1 cycle) a fost peste zero și sub capătul inferior al intervalului valid (Figura 8, Figura 9)</li> <li>ABL NEREUȘIT (ABL FAIL) – pragul de ciclu (Ct) ABL nu s-a încadrat în intervalul valabil sau punctul final a fost sub setarea pragului (Figura 6, Figura 7, Figura 8, Figura 10)</li> <li>Verificarea sondei – REUȘITĂ (PASS); toate rezultatele verificării sondei au reușit.</li> </ul>
<b>EROARE (ERROR)</b> Consultați Figura 11	<p>Nu se poate determina nivelul de transcript pentru mutația NPM1. Consultați Secțiunea 18, Ghid de depanare, pentru instrucțiuni suplimentare privind retestarea probei.</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>Mutație NPM1 FĂRĂ REZULTAT (NO RESULT)</li> <li>ABL FĂRĂ REZULTAT (NO RESULT)</li> <li>Verificarea sondei NEREUȘITĂ (FAIL) – toate sau unul dintre rezultatele verificării sondei au/a eșuat.</li> <li>Verificarea sondei REUȘITĂ (PASS) sau NA (nu este cazul) (NA (not applicable)) și Anulare din cauza presiunii (Pressure Abort)*.</li> </ul> <p>*Dacă verificarea sondei a reușit, eroarea a fost cauzată de limita maximă de presiune care depășește intervalul acceptabil sau de defecțiunea unei componente a sistemului.</p>
<b>FĂRĂ REZULTAT (NO RESULT)</b>	<p>Nu se poate determina nivelul de transcript pentru mutația NPM1. Au fost colectate date insuficiente pentru a genera un rezultat al analizei. De exemplu, acest lucru se poate întâmpla dacă operatorul a oprit o analiză care era în desfășurare. Consultați Secțiunea 18, Ghid de depanare, pentru instrucțiuni suplimentare privind retestarea probelor.</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>Mutație NPM1 FĂRĂ REZULTAT (NO RESULT)</li> <li>ABL FĂRĂ REZULTAT (NO RESULT)</li> <li>Verificarea sondei NA (nu este cazul) (NA (not applicable))</li> </ul>

## 16 Rezultate cantitative

Ieșirile cantitative ale Xpert NPM1 Mutation sunt furnizate ca raport procentual al mutației NPM1/ABL1. Trusele sunt alocate valorilor eficiență ( $E_{\Delta Ct}$ ) și factor de scalare (SF) specifice lotului, care leagă cuantificarea mutației NPM1 (A, B și D) și transcripturile ABL1 pentru a copia numerele de mutație NPM1 sintetice și standardele principale ale ARN transcris *in vitro* (IVT-ARN) pentru ABL1.

**Tabelul 2. Exemple de rezultate ale testului Xpert NPM1 Mutation**

Analiză	NPM1 Mutant		ABL		Xpert NPM1 Mutation Rezultatele testului	Note
	Ct	Rezultat <sup>a</sup>	Ct	Rezultat <sup>a</sup>		
1	5,2	NEVALID (INVALID)	5,8	NEREUȘITĂ (FAIL)	NEVALID [Transcripturi mutație NPM1 și ABL prea mare] (INVALID [Too high NPM1 Mutation and ABL transcripts])	NA
2	9	NEVALID (INVALID)	5,5	NEREUȘITĂ (FAIL)	NEVALID [Transcripturi ABL prea mari] (INVALID [Too high ABL transcript]s)	NA
3	5,5	NEVALID (INVALID)	8,5	REUȘITĂ (PASS)	NEVALID [Transcripturi mutație NPM1 prea mare] (INVALID [Too high NPM1 Mutation transcripts])	NA
4	25,0	NEVALID (INVALID)	21,8	NEREUȘITĂ (FAIL)	NEVALID [Transcript ABL insuficient] (INVALID [Insufficient ABL transcript])	NA
5	0	NEVALID (INVALID)	0	NEREUȘITĂ (FAIL)	NEVALID [Niciun transcript ABL] (INVALID [No ABL transcript])	NA
6	8,5	POZ	13,6	REUȘITĂ (PASS)	Mutație NPM1 DETECTATĂ [Peste LoQ superioară] (NPM1 Mutation DETECTED [Above upper LoQ])	NA
7	22,5	POZ	14,8	REUȘITĂ (PASS)	Mutație NPM1 DETECTATĂ [1,05%] (NPM1 Mutation DETECTED [1.05%])	Valoare raportată: 1,05%
8	27,9	POZ	14,0	REUȘITĂ (PASS)	Mutație NPM1 DETECTATĂ [Sub LoD; < 0,030%] (NPM1 Mutation DETECTED [Below LoD; <0,030%])	NA
9	0	NEG	14,6	REUȘITĂ (PASS)	NEGATIV [Transcript ABL suficient] (NEGATIVE [Sufficient ABL transcript])	NA
10	0	FĂRĂ REZULTAT (NO RESULT)	0	FĂRĂ REZULTAT (NO RESULT)	EROARE (ERROR)	De exemplu, Eroarea 5017 Verificare sondă [ABL] nereușită ([ABL] probe check failed)

<sup>a</sup> Consultați fila Rezultate analizat (Analyte Results) din software-ul sistemului GeneXpert Dx pentru detalii.

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

Mutația NPM1 a fost detectată la un nivel de #,##%.

Pentru un rezultat „Mutație NPM1 DETECTATĂ [#,##%] (NPM1 Mutation DETECTED [#.#]%)”, mutația NPM1 se poate detecta cu Ct mutație NPM1 mai mare decât sau egal cu „6” și mai mic decât sau egal cu „32” și Ct ABL mai mare decât sau egal cu „6” și mai mic decât sau egal cu „20”. Software-ul GeneXpert calculează procentul folosind următoarea ecuație unde valoarea Delta Ct ( $\Delta Ct$ ) se obține din Ct ABL minus Ct mutație NPM1:

$$\% = E_{\Delta Ct}^{(\Delta Ct)} \times 100 \times \text{factorul de scalare}$$

**Notă** Factorul de scalare ( $SF$ ) este un parametru specific lotului care este inclus în codul de bare al cartușului pentru analiză. Valoarea acestui factor și eficiența analizei specifice lotului ( $E_{\Delta Ct}$ ) sunt determinate prin testarea controlului de calitate pentru fiecare analiză, folosind standardele principale calibrate la numărul de exemplare de mutație NPM1 sintetică și calibratori ARN transcriși ABL1 *in vitro* (IVT-ARN) pentru cuantificarea transcripului pentru mutația NPM1. Valoarea  $E_{\Delta Ct}$  este setată la 1,95 și valoarea  $SF$  este setată la 1,79 pentru utilizarea în exemplul prezentat aici.

**Exemplu:**  $E_{\Delta Ct}$  specific lotului = 1,95;  $SF$  = 1,79  
 Ct ABL pentru analiză = 14,5; Ct mutație NPM1 = 17,1;  $\Delta Ct$  = -2,6  
 $\% = 1,95^{(-2,6)} \times 100 \times 1,79 = 31,53\%$

**Rezultat:** Mutație NPM1 DETECTATĂ [31,53%] (NPM1 Mutation DETECTED [31.53%]). Consultați Figura 2.

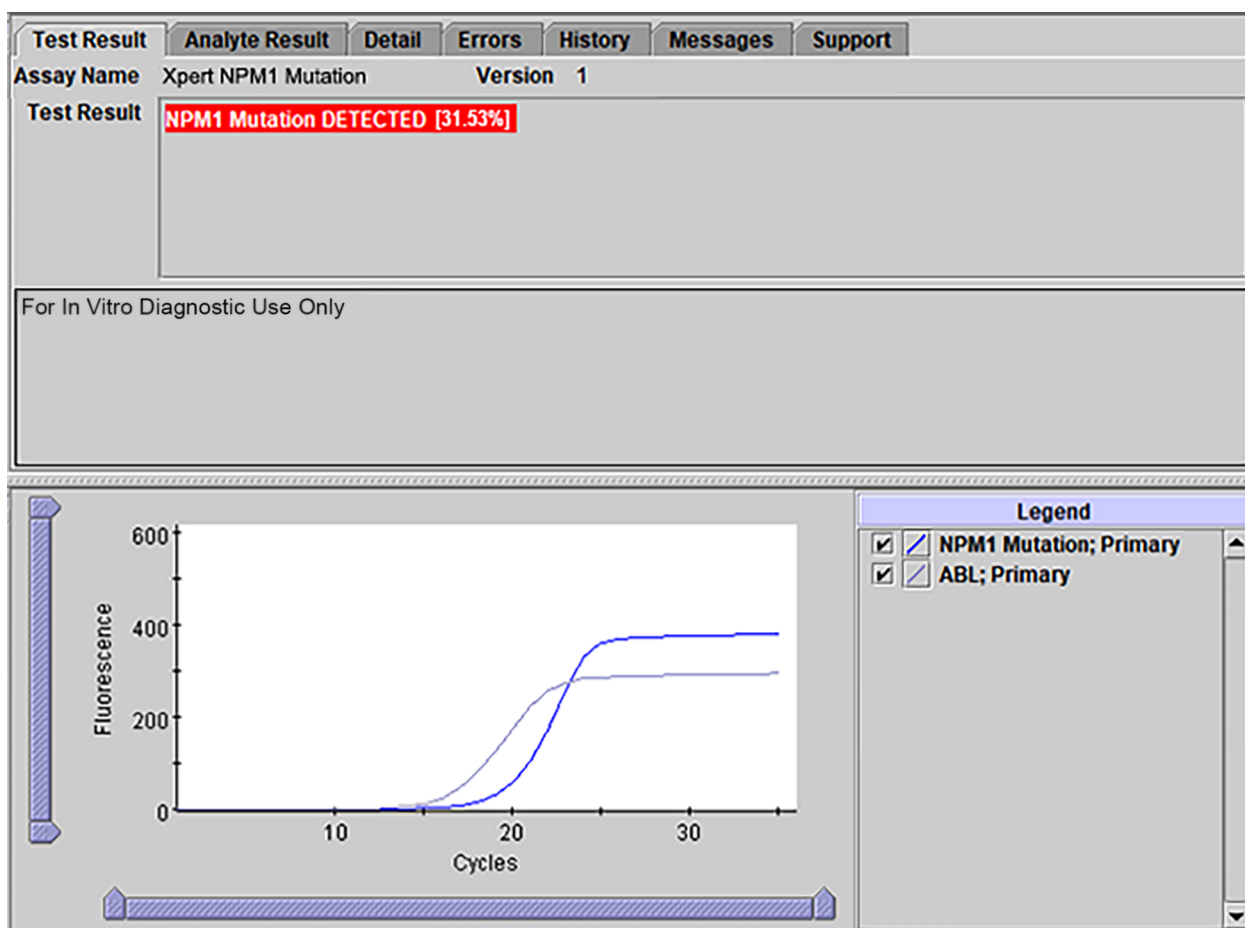


Figura 2. GeneXpert DxFereastra Vizualizare rezultate (View Results)  
 Mutație NPM1 DETECTATĂ [31,53%] (NPM1 Mutation DETECTED [31.53%])

## 16.2 Mutație NPM1 DETECTATĂ [Peste LoQ superioară] (NPM1 Mutation DETECTED [Above upper LoQ])

Mutația NPM1 a fost detectată la un nivel > 500%.

Pentru un rezultat „**Mutație NPM1 DETECTATĂ [Peste LoQ superioară] (NPM1 Mutation DETECTED [Above upper LoQ])**”, mutația NPM1 se poate detecta cu Ct mutație NPM1 mai mare decât sau egal cu „6” și mai mic decât sau egal cu „32” și Ct ABL mai mare decât sau egal cu „6” și mai mic decât sau egal cu „20”. Software-ul GeneXpert calculează procentul folosind următoarea ecuație unde valoarea Delta Ct ( $\Delta Ct$ ) se obține din Ct ABL minus Ct mutație NPM1:

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

Factorul de scalare (SF) este un parametru specific lotului care este inclus în codul de bare al cartușului pentru analiză. Valoarea acestui factor și eficiența analizei specifice lotului ( $E_{\Delta Ct}$ ) sunt determinate prin testarea controlului de calitate pentru fiecare analiză, folosind standardele principale calibrate la numărul de exemplare de mutație NPM1 sintetică și calibratori ARN transcriși ABL1 *in vitro* (IVT-ARN) pentru cuantificarea transcriptului pentru mutația NPM1. Valoarea  $E_{\Delta Ct}$  este setată la 1,95 și valoarea SF este setată la 1,79 pentru utilizarea în exemplul prezentat aici.

### Notă

**Exemplu:**  $E_{\Delta Ct}$  specific lotului = 1,95; SF = 1,79  
 Ct ABL pentru analiză = 13,4; Ct mutație NPM1 = 10,2;  $\Delta Ct = 3,2$   
 $\% = 1,95^{(3,2)} \times 100 \times 1,79 = 1516,92\%$  este mai mare decât LoQ superioară a analizei definită la 500%

**Rezultat:** **Mutație NPM1 DETECTATĂ [Peste LoQ superioară] (NPM1 Mutation DETECTED [Above upper LoQ]).** Consultați Figura 3.

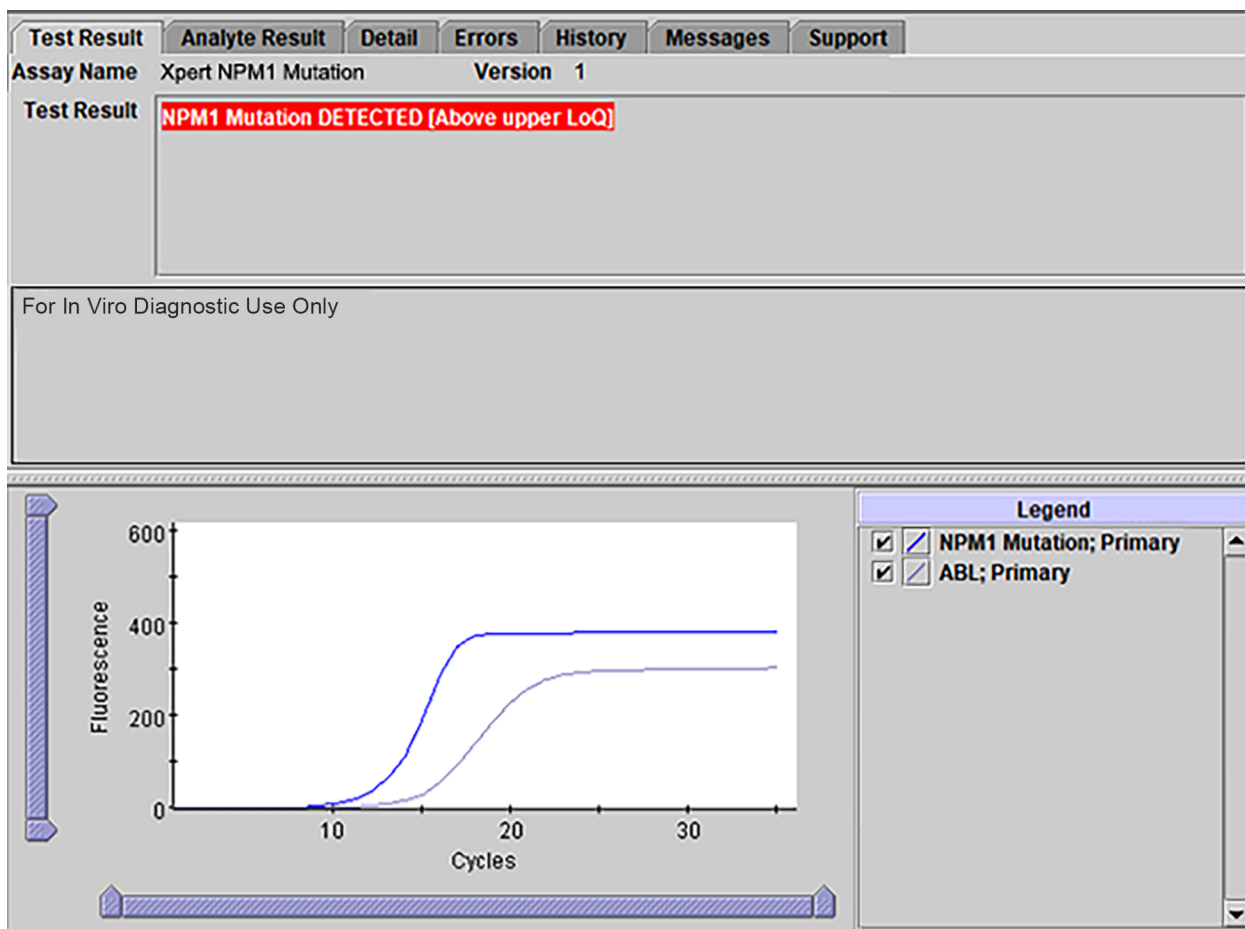


Figura 3. GeneXpert DxFereastra Vizualizare rezultate (View Results) Mutație NPM1 DETECTATĂ [Peste LoQ superioară] (NPM1 Mutation DETECTED [Above upper LoQ])

## 16.3 Mutație NPM1 DETECTATĂ [Sub LoD; < 0,030%] (NPM1 Mutation DETECTED [Below LoD; <0,030%])

Mutația NPM1 a fost detectată la un nivel < 0,030%.

Pentru un rezultat „Mutație NPM1 DETECTATĂ [Sub LoD; < 0,030%] (NPM1 Mutation DETECTED [Below LoD; < 0.030%])”, mutația NPM1 se poate detecta cu Ct mutație NPM1 mai mare decât sau egal cu „6” și mai mic decât sau egal cu „32” și Ct ABL mai mare decât sau egal cu „6” și mai mic decât sau egal cu „20”. Software-ul GeneXpert calculează procentul folosind următoarea ecuație unde valoarea Delta Ct ( $\Delta Ct$ ) se obține din Ct ABL minus Ct mutație NPM1:

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

Factorul de scalare (SF) este un parametru specific lotului care este inclus în codul de bare al cartușului pentru analiză. Valoarea acestui factor și eficiența analizei specifice lotului ( $E_{\Delta Ct}$ ) sunt determinate prin testarea controlului de calitate pentru fiecare analiză, folosind standardele principale calibrate la numărul de exemplare de mutație NPM1 sintetică și calibratori ARN transcriși ABL1 *in vitro* (IVT-ARN) pentru cuantificarea transcriptului pentru mutația NPM1. Valoarea  $E_{\Delta Ct}$  este setată la 1,95 și valoarea SF este setată la 1,79 pentru utilizarea în exemplul prezentat aici.

### Notă

**Exemplu:**  $E_{\Delta Ct}$  specific lotului = 1,95; SF = 1,79  
Ct ABL pentru analiză = 14,3; Ct mutație NPM1 = 28,8;  $\Delta Ct = -14,5$   
 $\% = 1,95^{(-14,5)} \times 100 \times 1,79 = 0,011\%$  este mai mic decât LoD definită a analizei la 0,030%

**Rezultat:** Mutație NPM1 DETECTATĂ [Sub LoD; < 0,030%] (NPM1 Mutation DETECTED [Below LoD; < 0,030%]). Consultați Figura 4.

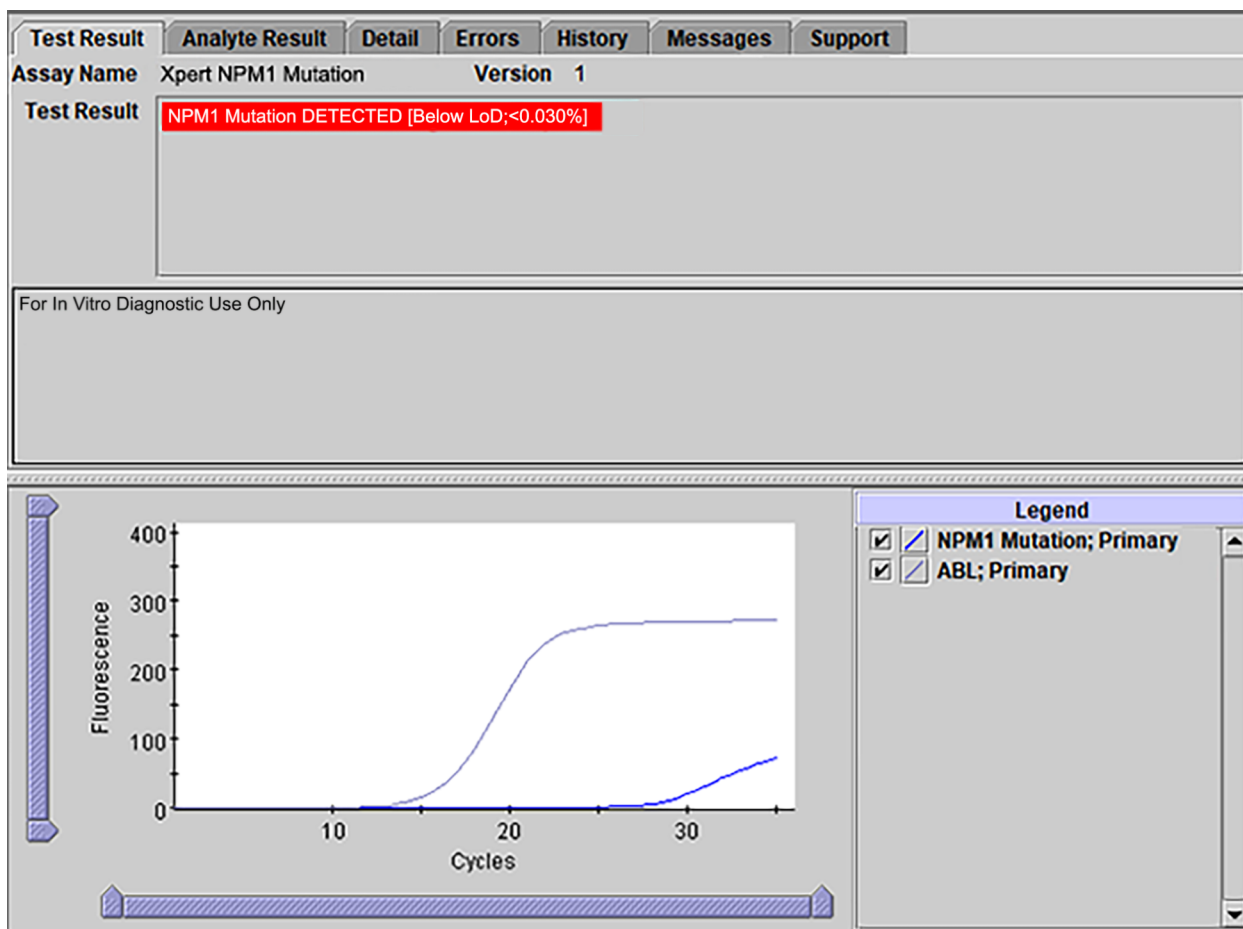


Figura 4. Fereastra rezultatelor pentru vizualizarea GeneXpert: Mutație NPM1 DETECTATĂ [Sub LoD; < 0,030%] (NPM1 Mutation DETECTED [Below LoD; <0,030%])



## 16.4 Mutație NPM1 NEDETECTATĂ [Transcript ABL suficient] (NPM1 Mutation NOT DETECTED [Sufficient ABL transcript])

Mutația NPM1 nu a fost detectată cu Ct NPM1 egal cu „0” sau mai mare decât „32” și Ct ABL mai mare decât „6” și mai mică sau egală cu „20”.

Software-ul GeneXpert solicită ca Ct ABL să fie mai mare decât sau egală cu „6” și mai mică decât sau egală cu „20” pentru ca testul Xpert NPM1 Mutation să asigure că există „Sufficient transcript ABL (Sufficient ABL transcript)”. Consultați Secțiunea 15, Interpretarea rezultatelor, Tabelul 1.

**Exemplu:** Ct mutație NPM1 pentru analiză = 0; Ct ABL = 14,0 este între „6” și „20”.

**Rezultat:** **Mutație NPM1 NEDETECTATĂ [Transcript ABL suficient] (NPM1 Mutation NOT DETECTED [Sufficient ABL transcript]).** Consultați Figura 5.

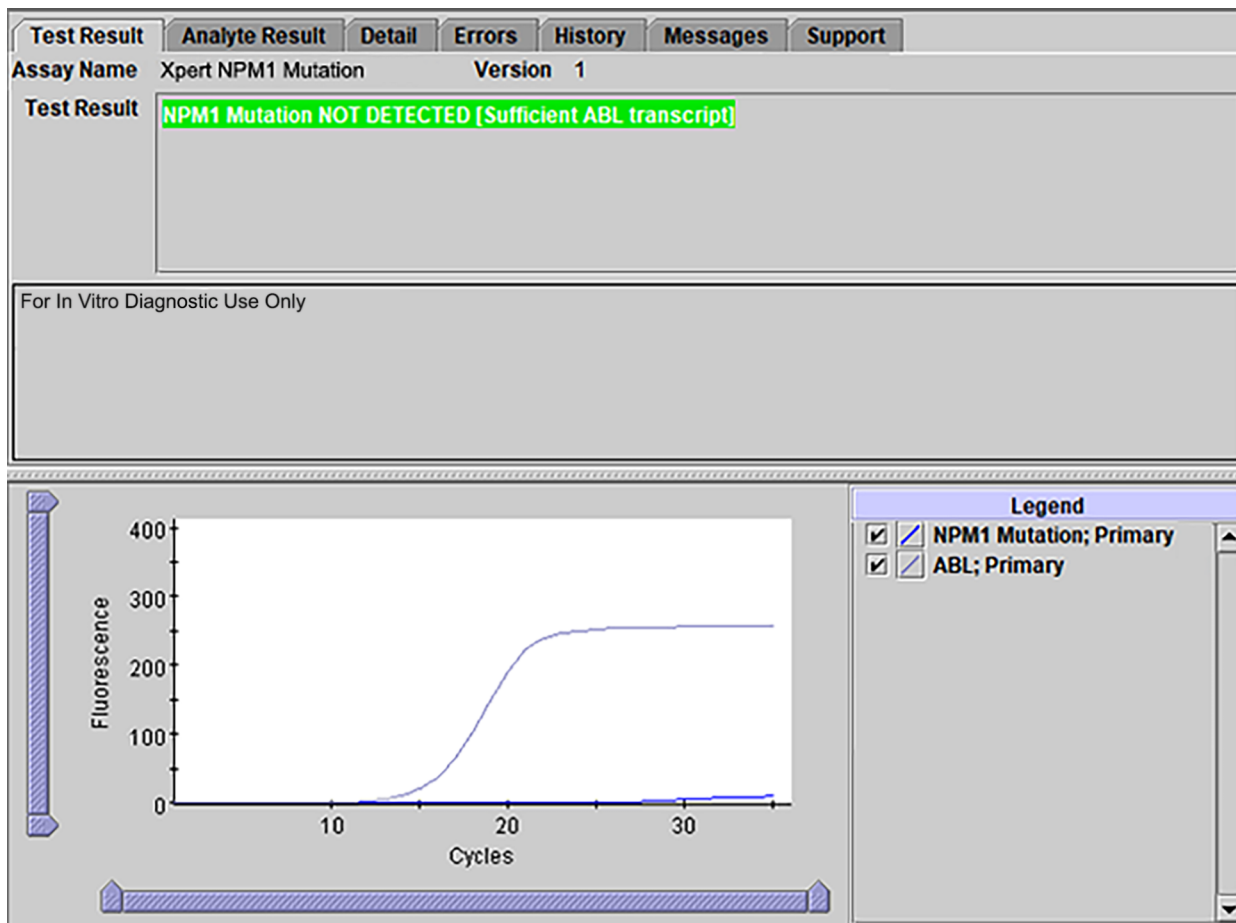


Figura 5. Fereastra rezultatelor pentru vizualizarea GeneXpert: Mutație NPM1 NEDETECTATĂ [Transcript ABL suficient] (NPM1 Mutation NOT DETECTED [Sufficient ABL transcript])

## 16.5 NEVALID [Niciun transcript ABL] (INVALID [No ABL transcript])

Mutația NPM1 a fost detectată sau nedetectată cu Ct ABL egal cu „0”.

Software-ul GeneXpert solicită ca Ct ABL să fie mai mare decât sau egală cu „6” și mai mică decât sau egală cu „20” pentru ca testul Xpert NPM1 Mutation să asigure că există „Suficient transcript ABL (Sufficient ABL transcript)”. Consultați Secțiunea 18, Ghid de depanare.

**Exemplu:** Ct mutație NPM1 pentru analiză = 0; Ct ABL = 0.

**Rezultat:** **NEVALID [Niciun transcript ABL] (INVALID [No ABL transcript])**. Consultați Figura 6.

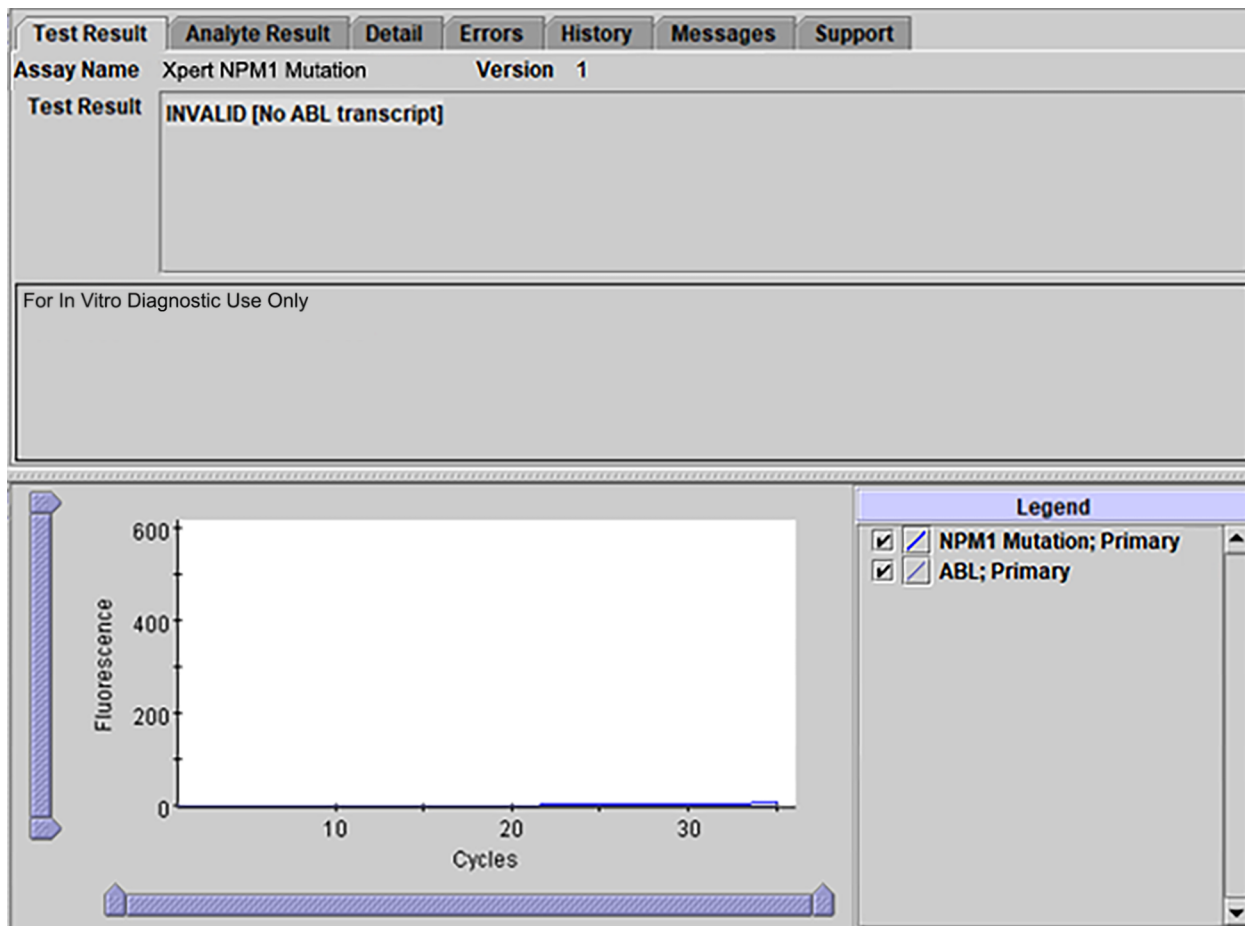


Figura 6. Fereastra rezultatelor pentru vizualizarea GeneXpert:  
NEVALID [Niciun transcript ABL] (INVALID [No ABL transcript])

## 16.6 NEVALID [Transcript ABL insuficient] (INVALID [Insufficient ABL transcript])

Mutația NPM1 a fost detectată sau nedetectată cu Ct ABL mai mare decât „20”.

Software-ul GeneXpert solicită ca Ct ABL să fie mai mare decât sau egală cu „6” și mai mică decât sau egală cu „20” pentru ca testul Xpert NPM1 Mutation să asigure că există „Suficient transcript ABL (Sufficient ABL transcript)”. Consultați Secțiunea 18, Ghid de depanare.

**Exemplu:** Ct mutație NPM1 pentru analiză = 33,3; Ct ABL = 20,2 este mai mare decât „20”.

**Rezultat:** **NEVALID [Transcript ABL insuficient] (INVALID [Insufficient ABL transcript]).**  
Consultați Figura 7.

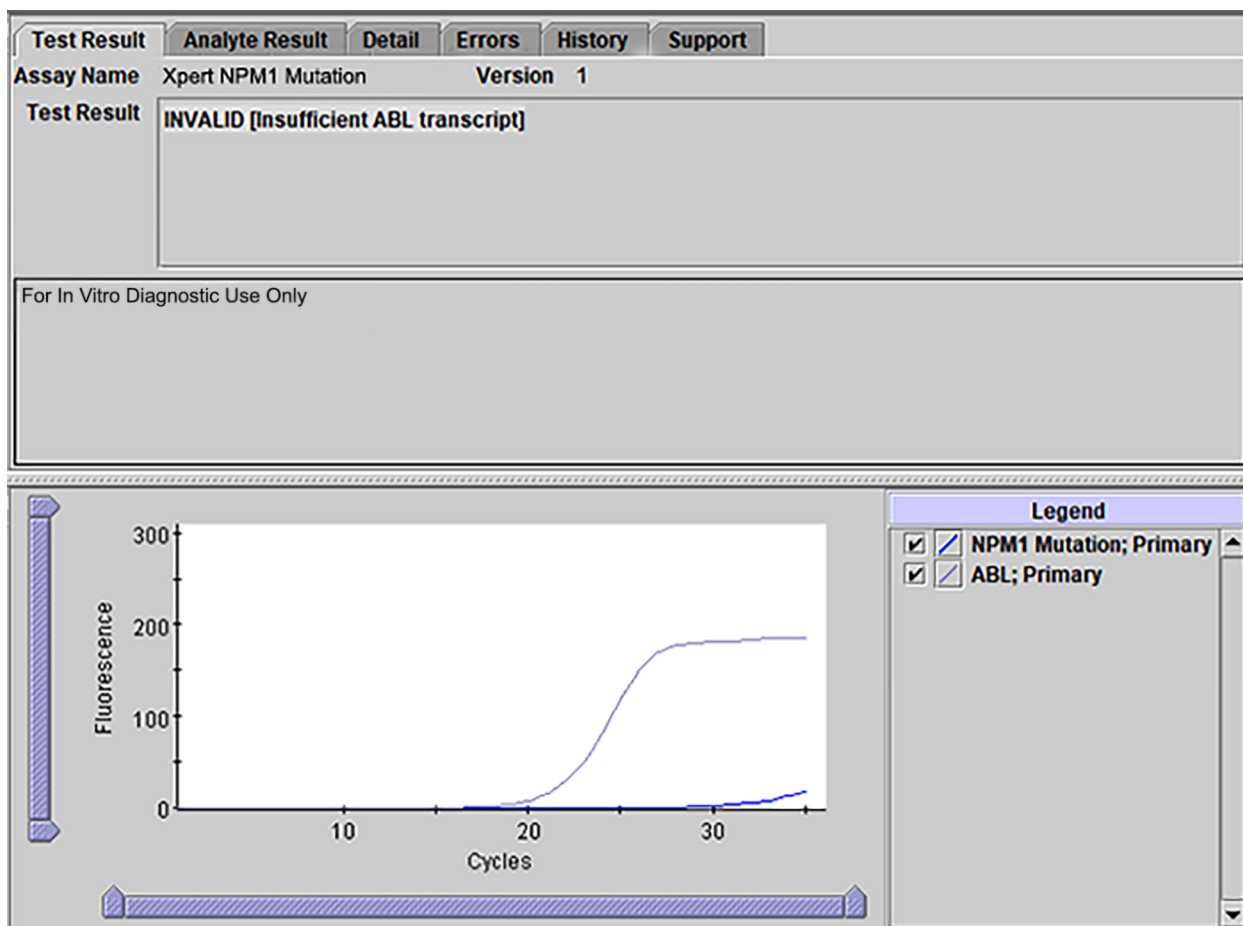


Figura 7. Fereastra rezultatelor pentru vizualizarea GeneXpert: NEVALID [Transcript ABL insuficient] (INVALID [Insufficient ABL transcript])

## 16.7 NEVALID [Transcript mutație NPM1 și ABL prea mare] (INVALID [Too high NPM1 Mutation and ABL transcript])

Mutația NPM1 a fost detectată cu mutație NPM1 și Ct ABL ambele mai mari decât „0” și mai mici decât „6”.

Software-ul GeneXpert solicită ca Ct ABL să fie mai mare decât sau egală cu „6” și mai mică decât sau egală cu „20” pentru ca testul Xpert NPM1 Mutation să asigure că există „Suficient transcript ABL (Sufficient ABL transcript)”. Consultați Secțiunea 18, Ghid de depanare.

**Exemplu:** Ct mutație NPM1 pentru analiză = 5,4 este mai mare decât „0” și mai mică decât „6”; Ct ABL = 5,9 este mai mică decât „6”.

**Rezultat:** **NEVALID [Transcript mutație NPM1 și ABL prea mare] (INVALID [Too high NPM1 Mutation and ABL transcript]).** Consultați Figura 8.

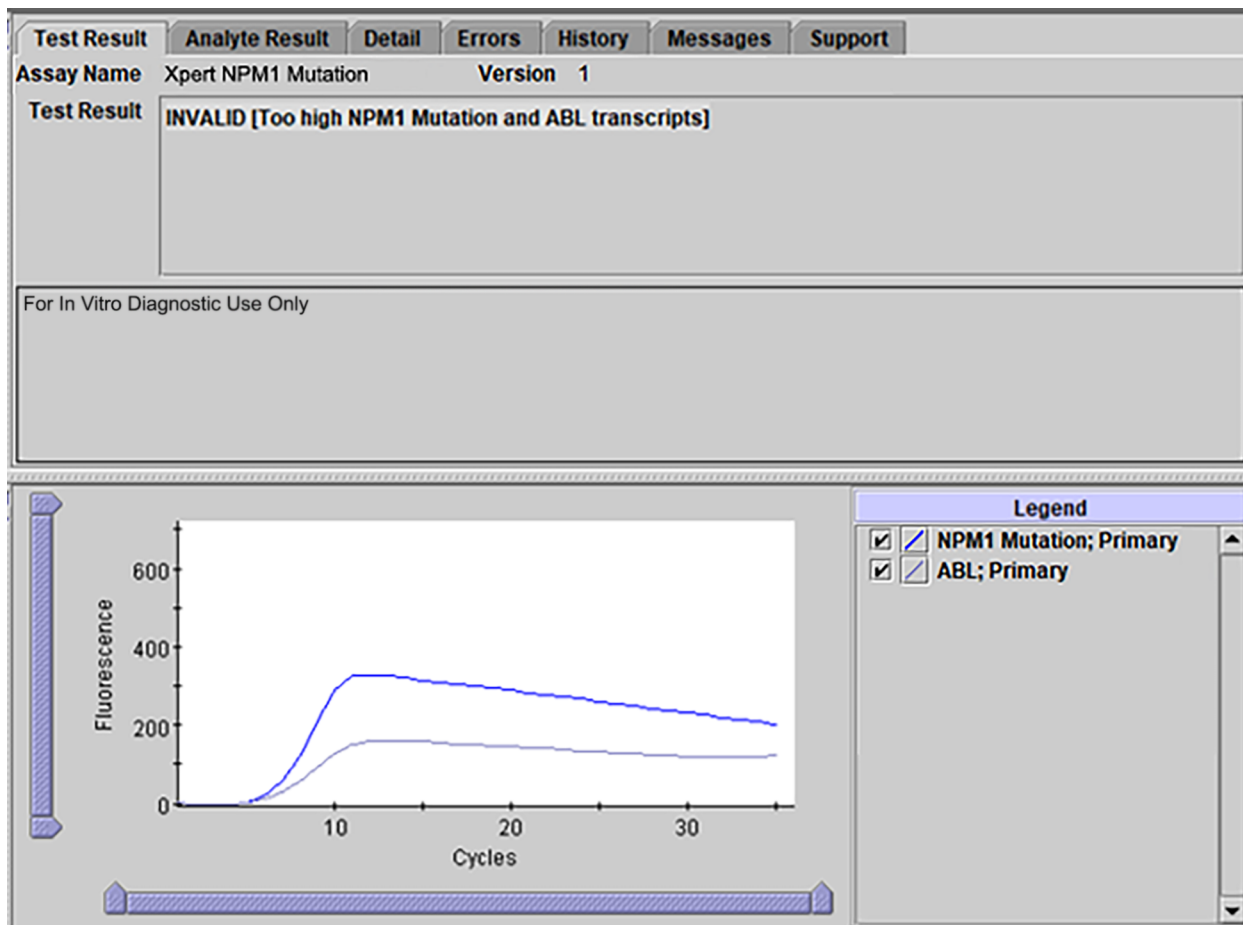


Figura 8. GeneXpert Dx Fereastră Vizualizare rezultate (View Results) NEVALID [Transcript mutație NPM1 și ABL prea mare] (INVALID [Too high NPM1 Mutation and ABL transcript])

## 16.8 NEVALID [Transcript mutație NPM1 prea mare] (INVALID [Too high NPM1 Mutation transcript])

Mutația NPM1 a fost detectată cu Ct mutație NPM1 mai mare decât „0” și mai mică decât „6” și Ct ABL mai mare decât „6” și mai mică sau egală cu „20”.

Software-ul GeneXpert solicită ca Ct ABL să fie mai mare decât sau egală cu „6” și mai mică decât sau egală cu „20” pentru ca testul Xpert NPM1 Mutation să asigure că există „Suficient transcript ABL (Sufficient ABL transcript)”. Consultați Secțiunea 18, Ghid de depanare.

**Exemplu:** Ct mutație NPM1 pentru analiză = 5,8 este mai mare decât „0” și mai mică decât „6”; Ct ABL = 13 este între „6” și „20”.

**Rezultat:** **NEVALID [Transcript mutație NPM1 prea mare] (INVALID [Too high NPM1 Mutation transcript])**. Consultați Figura 9.

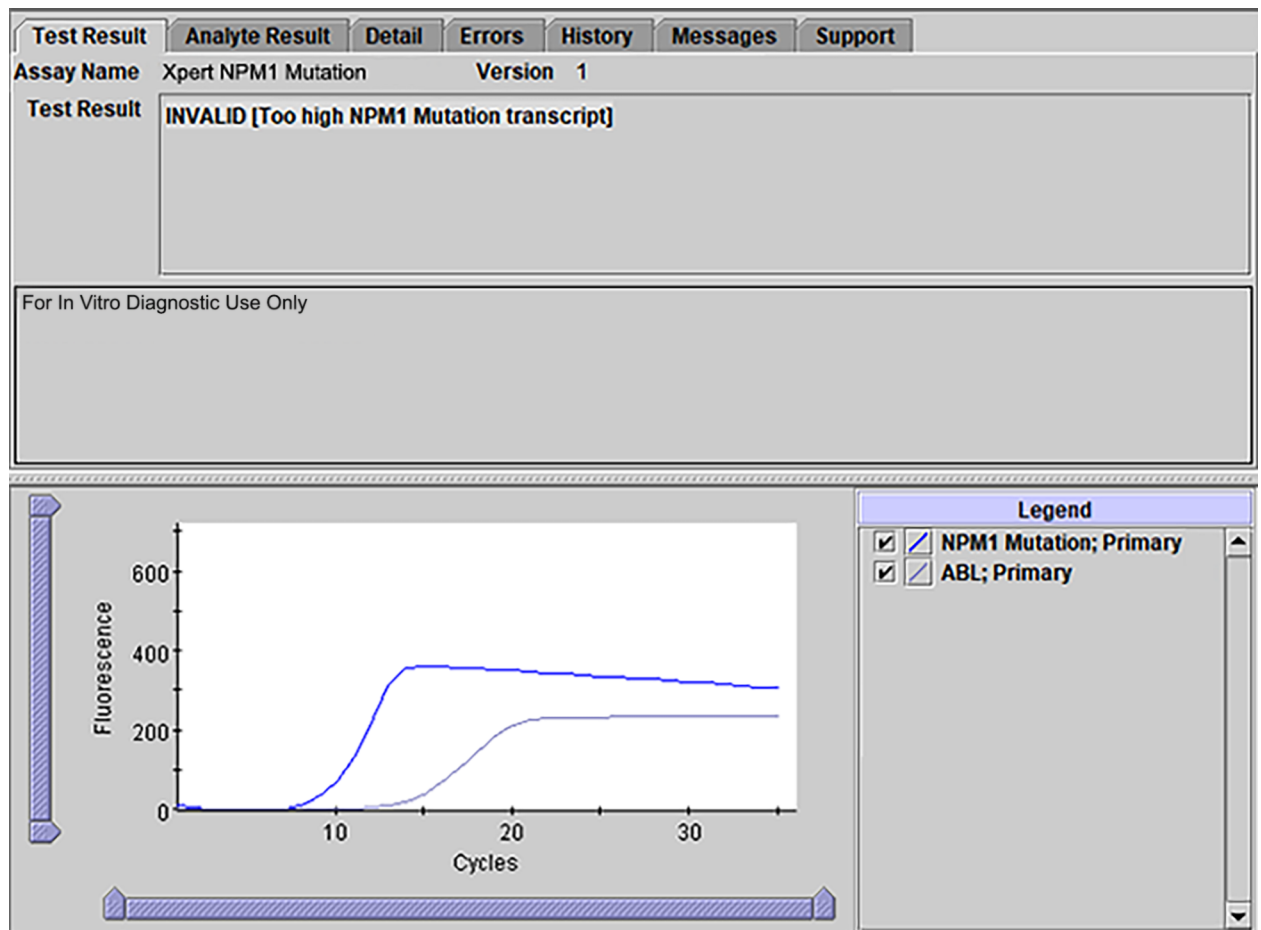


Figura 9. Fereastra rezultatelor pentru vizualizarea GeneXpert: **NEVALID [Transcript mutație NPM1 prea mare] (INVALID [Too high NPM1 Mutation transcript])**

## 16.9 NEVALID [Transcript mutație ABL prea mare] (INVALID [Too high ABL Mutation transcript])

Mutația NPM1 a fost detectată cu Ct mutație NPM1 mai mare decât „6” și mai mică sau egală cu „32” și Ct ABL nu este egală cu „0” și mai mică decât „6”.

Software-ul GeneXpert solicită ca Ct ABL să fie mai mare decât sau egală cu „6” și mai mică decât sau egală cu „20” pentru ca testul Xpert NPM1 Mutation să asigure că există „Suficient transcript ABL (Sufficient ABL transcript)”. Consultați Secțiunea 18, Ghid de depanare.

**Exemplu:** Ct mutație NPM1 pentru analiză = 13,2; Ct ABL = 5,8 este mai mică decât „6”.

**Rezultat:** **NEVALID [Transcript ABL prea mare] (INVALID [Too high ABL transcript])**. Consultați Figura 10.

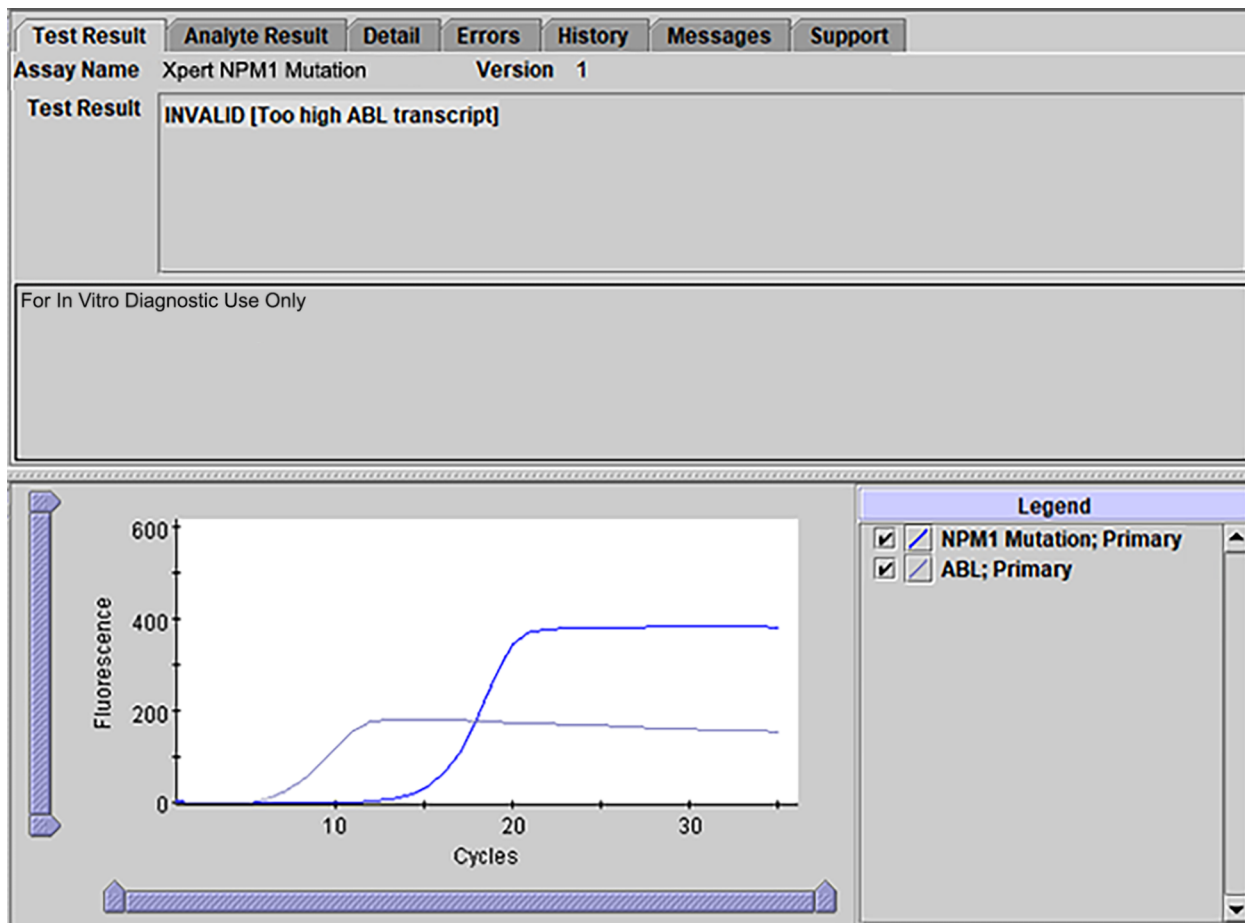


Figura 10. Fereastra rezultatelor pentru vizualizarea GeneXpert:  
NEVALID [Transcript ABL prea mare] (INVALID [Too high ABL transcript])

## 16.10 EROARE (ERROR)

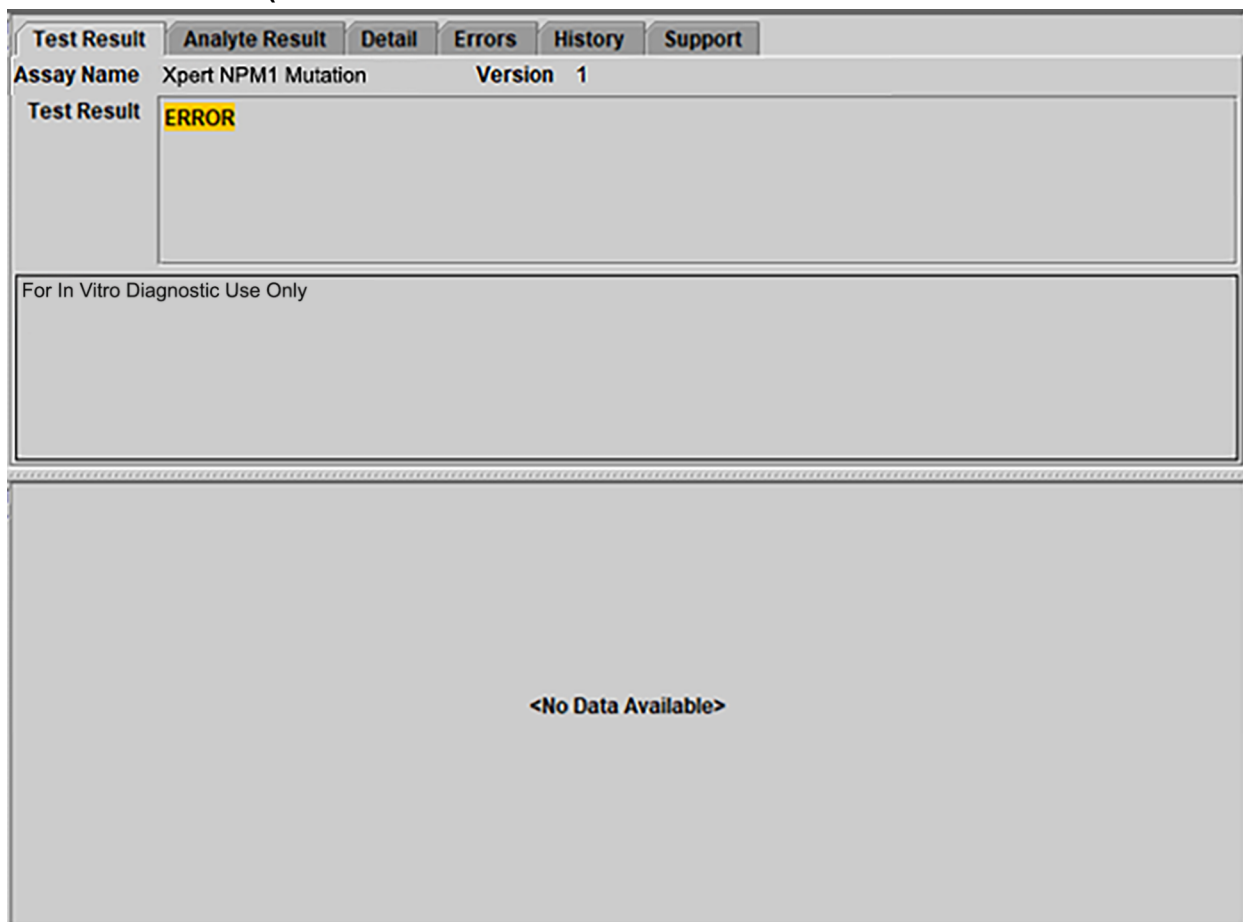


Figura 11. Fereastra rezultatelor pentru vizualizarea GeneXpert: EROARE (ERROR)

## 17 Limitările analizei

- Analiza nu este destinată a fi utilizată cu calibratori externi.
- Modificările aduse acestor proceduri pot altera funcționarea analizei.
- Acest produs a fost conceput pentru a fi utilizat doar cu sângele colectat în eprubetele EDTA.
- Nu utilizați heparina ca anticoagulant, deoarece poate inhiba reacția PCR.
- Tipurile de probe cu citrat de sodiu, strat leuco-trombocitar și de măduvă osoasă nu au fost validate.
- Rezultatele eronate ale analizei pot apărea în urma recoltării, manipulării sau stocării sau amestecării incorecte a probei. Este necesară respectarea cu atenție a instrucțiunilor de utilizare pentru a evita rezultatele eronate.
- Mutații sau polimorfisme în regiunile de legare ale amorsei sau probei pot afecta detectarea variantelor noi sau necunoscute și pot duce la un rezultat fals negativ.
- Numărul excesiv de mare de leucocite poate determina acumularea presiunii în cartuș și poate duce la rulări abandonate sau rezultate inexacte.
- Pentru unele probe cu niveluri foarte scăzute de transcript ABL sau cu un număr de leucocite mai mic de 150.000 celule/ml pot fi raportate rezultate **NEVALIDE (INVALID)** (Tipul 1). Un rezultat nedeterminat nu exclude prezența unor niveluri foarte scăzute de celule leucemice în probă.

## 18 Ghid de depanare

Tabelul 3. Ghid de depanare

Rezultatul analizei	Cauze posibile	Sugestii
<b>NEVALID (INVALID)</b>	<p>Tipul 1: Eșuare a controlului endogen ABL:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Calitate slabă a probei</li> <li>• Inhibarea RT-PCR</li> <li>• Ct ABL &gt; 20 și/sau punctul final &lt; 100</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Verificați calitatea probei (de exemplu, dacă s-au depășit cerințele privind depozitarea probei, inclusiv durata și temperatura).</li> <li>• Repetați analiza cu proba originală (dacă este disponibilă) sau din lizat păstrat și cu un cartuș nou urmând procedura descrisă în Secțiunea 19.1, Procedura de retestare pentru EROARE (ERROR) sau NEVALID (INVALID) (Tipul 1).</li> </ul>
	<p>Tipul 2: Nivelul transcriptului mutației NPM1 nu poate fi determinat deoarece proba conține transcripturi ale mutației NPM1 și/sau transcript ABL în exces (Ct &lt; 6)</p>	<p>Repetăți analiza cu proba originală (dacă este disponibilă) sau din lizat păstrat și cu un cartuș nou urmând procedura descrisă în Secțiunea 19.2, Procedura de retestare pentru EROARE (ERROR) (cod 2008) sau NEVALID (INVALID) (Tipul 2).</p>
<b>EROARE (ERROR)</b> (cod 2008)	<p>Presiunea depășește limita (mesaj de eroare 2008)</p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Verificați calitatea probei</li> <li>• Verificați dacă numărul de leucocite este foarte ridicat</li> <li>• Repetați analiza cu proba originală (dacă este disponibilă) sau din lizat păstrat și cu un cartuș nou urmând procedura descrisă în Secțiunea 19.2, Procedura de retestare pentru EROARE (ERROR) (cod 2008) sau NEVALID (INVALID) (Tipul 2).</li> </ul>
<p><b>EROARE (ERROR)</b> (cod 5006, 5007, 5008 și 5009*)</p> <p>*Aceasta nu este o listă exhaustivă de coduri de EROARE (ERROR).</p>	<p>Verificarea sondei a eșuat</p>	<p>Repetăți analiza cu proba originală (dacă este disponibilă) sau din lizat păstrat și cu un cartuș nou urmând procedura descrisă în Secțiunea 19.1, Procedura de retestare pentru EROARE (ERROR) sau NEVALID (INVALID) (Tipul 1).</p>
<b>FĂRĂ REZULTAT (NO RESULT)</b>	<p>Colectarea datelor a eșuat De exemplu, operatorul a oprit o analiză care era în desfășurare sau a apărut o pană de curent.</p>	<p>Repetăți analiza cu proba originală (dacă este disponibilă) sau din lizat păstrat și cu un cartuș nou urmând procedura descrisă în Secțiunea 19.1, Procedura de retestare pentru EROARE (ERROR) sau NEVALID (INVALID) (Tipul 1).</p>



## 19 Retestări

### 19.1 Procedura de retestare în cazul unui rezultat EROARE (ERROR) sau NEVALID (INVALID) (Tipul 1)

Retestați probele cu rezultate **EROARE (ERROR)** sau **NEVALIDE (INVALID)** din cauza pragului ciclului (Ct) ABL care depășește valoarea limită maximă validă a Ct (Ct > 20) sau punctul final este sub setarea pragului (< 100). Consultați și Secțiunea 18, Ghid de depanare.

1. Dacă este disponibil un volum suficient de probe de sânge, retestați din eprubeta originală de colectare a probei de sânge urmând procedura din Secțiunea 12.2.

-SAU-

Dacă volumul probei de sânge este insuficient, se poate efectua retestarea cu lizatul păstrat de la Secțiunea 12.2.1, pasul 12.

- a. Dacă lizatul păstrat de la Secțiunea 12.2.1, pasul 12, este depozitat în stare congelată, decongealați la temperatura camerei înainte de utilizare.
  - b. Asigurați-vă că lizatul este bine amestecat prin amestecarea probei cu un mixer centrifugațional la setarea maximă în mod continuu timp de 10 secunde și lăsați-l deoparte timp de 3 minute pentru ca bulele să se așeze.
2. Transferați 1 ml de lizat preparat într-o eprubetă conică nouă de 50 ml.
  3. Urmați pașii 13-17 din Secțiunea 12.2.1 pentru a prepara lizatul final.
  4. Deschideți cartușul ridicând capacul și transferați întregul conținut al unei (1) ampule de reactiv de spălare în compartimentul pentru reactiv de spălare (cu deschidere mică). Consultați Figura 1.
  5. Pipetați întregul conținut al probei preparate în compartimentul pentru probă (deschidere mare). Consultați Figura 1.
  6. Închideți capacul cartușului. Începeți analiza (consultați Secțiunea 12.4, Inițierea analizei).

### 19.2 Procedura de retestare în cazul unui rezultat EROARE (ERROR) (cod 2008) sau NEVALID (INVALID) (Tipul 2)

Retestați probele cu niveluri ale transcriptului mutație NPM1 și/sau ABL sub valoarea limită minimă valabilă a Ct (Ct > 0 și Ct < 6) și/sau când limita de presiune este depășită. Consultați și Secțiunea 18, Ghid de depanare.

1. Adăugați 100 μl de PK (Proteinază K) în partea de jos a unei eprubete conice noi de 50 ml.
2. Asigurați-vă că proba de sânge sau lizatul rămas din Secțiunea 12.2, Pasul 12, este bine amestecată, inversând eprubeta de 8 ori imediat înainte de pipetare.
3. În eprubeta care conține deja Proteinază K, adăugați 250 μl de probă de sânge și 3,75 ml de PBS (pH 7,4, furnizat de utilizator), dacă este disponibil, sau 60 μl de lizat păstrat din Secțiunea 12.2.1, Pasul 12.
  - a. Dacă lizatul păstrat de la Secțiunea 12.2.1, pasul 12, este depozitat în stare congelată, decongealați la temperatura camerei înainte de utilizare.
  - b. Asigurați-vă că lizatul este bine amestecat prin amestecarea probei cu un mixer centrifugațional la setarea maximă în mod continuu timp de 10 secunde și lăsați-l deoparte timp de 3 minute pentru ca bulele să se așeze.
4. Amestecați proba cu un mixer centrifugațional la setarea maximă în mod continuu timp de 3 secunde.
5. Incubați timp de 1 minut la temperatura camerei.
6. Pentru retestarea probei de sânge cu PBS, urmați Pașii 6-17 din Secțiunea 12.2.1, pentru a obține lizatul final. Pentru retestarea probei de lizat păstrat, urmați Pașii a-g de mai jos pentru a obține lizatul final.
  - a. În eprubeta cu proba de retestare de lizat păstrat, adăugați 2,5 ml de LY.
  - b. Amestecați proba cu un mixer centrifugațional la setarea maximă în mod continuu timp de 10 secunde.
  - c. Incubați timp de 5 minute la temperatura camerei.
  - d. Amestecați proba cu un mixer centrifugațional la setarea maximă în mod continuu timp de 10 secunde.
  - e. Incubați timp de 5 minute la temperatura camerei.
  - f. Adăugați 2 ml de etanol absolut de grad reactiv (furnizat de utilizator) în aceeași eprubetă
  - g. Amestecați proba cu un mixer centrifugațional la setarea maximă în mod continuu timp de 10 secunde. Puneți deoparte.
7. Deschideți cartușul ridicând capacul și transferați întregul conținut al unei (1) ampule de reactiv de spălare în compartimentul pentru reactiv de spălare (cu deschidere mică). Consultați Figura 1.
8. Pipetați întregul conținut al probei preparate în compartimentul pentru probă (deschidere mare). Consultați Figura 1.

9. Închideți capacul cartușului. Începeți analiza (consultați Secțiunea 12.4, Inițierea analizei).

## 20 Valori preconizate

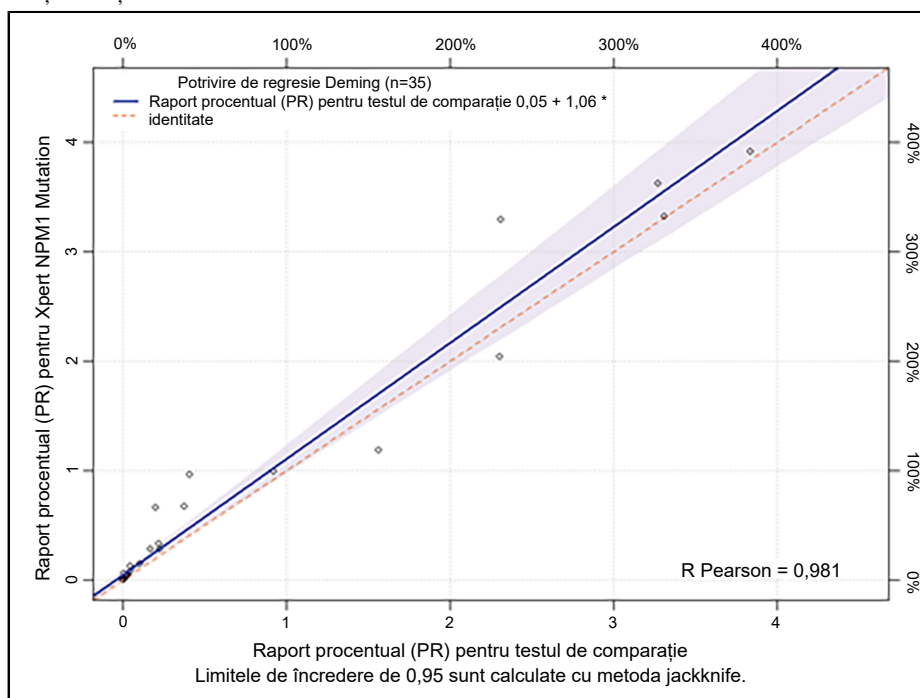
Intervalul Xpert NPM1 Mutation acoperă puncte-cheie de decizie clinică pentru monitorizarea LMA. Valorile preconizate sunt exprimate ca raport procentual dintre ARNm mutația NPM1 și ARNm ABL și variază între 0,030% și 500%. Măsurătorile sub acest interval sunt raportate ca nedetectate sau sub limita de detecție (LoD). Măsurătorile peste acest interval sunt raportate ca fiind peste limita de cuantificare (LoQ). Consultați Secțiunea 15 pentru detalii.

## 21 Performanță clinică

S-a realizat un studiu multicentric, cu comparare, cu metodă observațională, în 3 centre din SUA și 1 centru în afara SUA. În studiu au fost înregistrate speciemenle de la 40 de pacienți cu LMA discretă cu mutație NPM1 de la un anumit interval temporal și într-un interval dinamic de teste Xpert NPM1 Mutation. Vârsta și sexul au fost colectate de la pacienții de la care au fost obținute probele. Distribuția pe sexe a fost 11 bărbați (27,5%) și 29 de femei (72,5%). Toate probele au fost de la pacienți cu vârsta cuprinsă între 16 și 81 de ani, cu o vârstă medie de 59,7 ani.

Toate cele 40 de probe au generat rezultate valide ale testului. 36 din cele 40 de probe au generat rezultate în intervalele cantitative ale ambelor teste. 4 probe au fost excluse din regresia Deming deoarece probele au fost negative la testul Xpert NPM1 Mutation și/sau la testul de comparare. A mai fost exclusă încă o probă deoarece era contaminată. În total au fost incluse 35 de probe în analiza regresiei Deming.

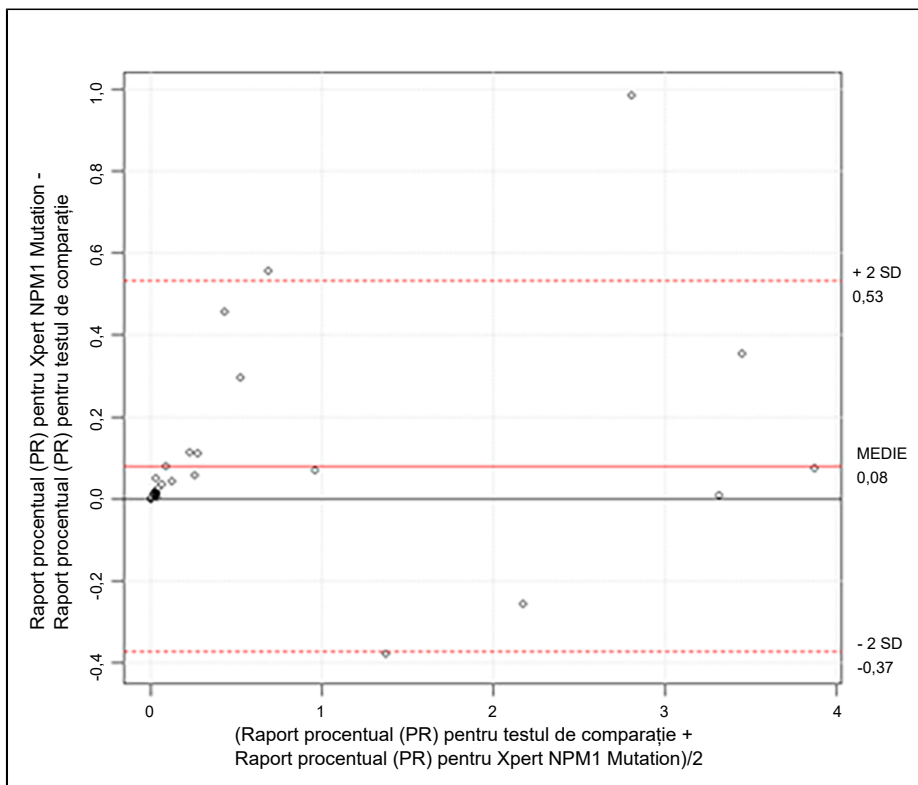
Performanța testului Xpert NPM1 Mutation comparativ cu analiza comparatorului a fost evaluată folosind o regresie Deming pentru a determina panta și ordonata la origine. Figura 12 prezintă rezultatele analizei regresiei Deming, inclusiv panta, ordonata la origine și linia de identitate la cele 35 de probe. Limitele de încredere de 95% au fost calculate folosind metoda jackknife și se afișează coeficientul de corelare Pearson.



**Figura 12. Regresia Deming pentru raportul procentual**

Panta și ordonata la origine pentru raportul procentual din analiza regresiei Deming au fost 1,06 și respectiv 0,05, iar corelarea Pearson a fost 0,981 între măsurătorile testului Xpert NPM1 Mutation și ale testului comparator.

A fost evaluată o analiză Bland-Altman pentru diferența raportului procentual pentru cele 35 de probe cu rezultate cantitative care s-au încadrat în intervalul liniar al Xpert NPM1 Mutation și al testului comparator. Figura 13 prezintă graficul Bland-Altman cu diferența raportului procentual între cele două teste față de rezultatele raportului procentual mediu pentru fiecare probă. De asemenea, graficul afișează două abateri standard (2SD) superioară și inferioară pentru diferența medie observată în cadrul studiului.



**Figura 13. Graficul Bland-Altman pentru Xpert NPM1 Mutation și raportul procentual pentru testul de comparație**

Diferența medie a fost 0,08 în raportul procentual între rezultatul Xpert NPM1 Mutation și al testului comparator. Majoritatea (91,4%, 32/35) rezultatelor s-au încadrat în 2SD ale diferenței medii.

## 22 Date analitice

### 22.1 Liniaritate/Interval dinamic

Liniaritatea a fost determinată pentru fiecare dintre cele trei subtipuri de mutații NPM1, mutA, mutB și mutD, folosind lizatul celular care conține niveluri ridicate din fiecare transcript al subtipului. Un astfel de lizat a fost diluat într-un lizat de fond preparat de la donatori presupuși negativi la mutația NPM1 la intervalele ținută cuprinse între ~0,01 și 2500% mutație NPM1/ABL. Toate nivelurile au fost testate pe un lot de reactivi în 4 exemplare. Testarea și analizele statistice s-au efectuat în conformitate cu CLSI EP06-A<sup>9</sup>. Curbele de regresie pentru fiecare subtip sunt prezentate în Figura 14, Figura 15 și Figura 16. Intervalul liniar pentru fiecare subtip și coeficienții modelului liniar sunt prezentate pe scurt în Tabelul 4.

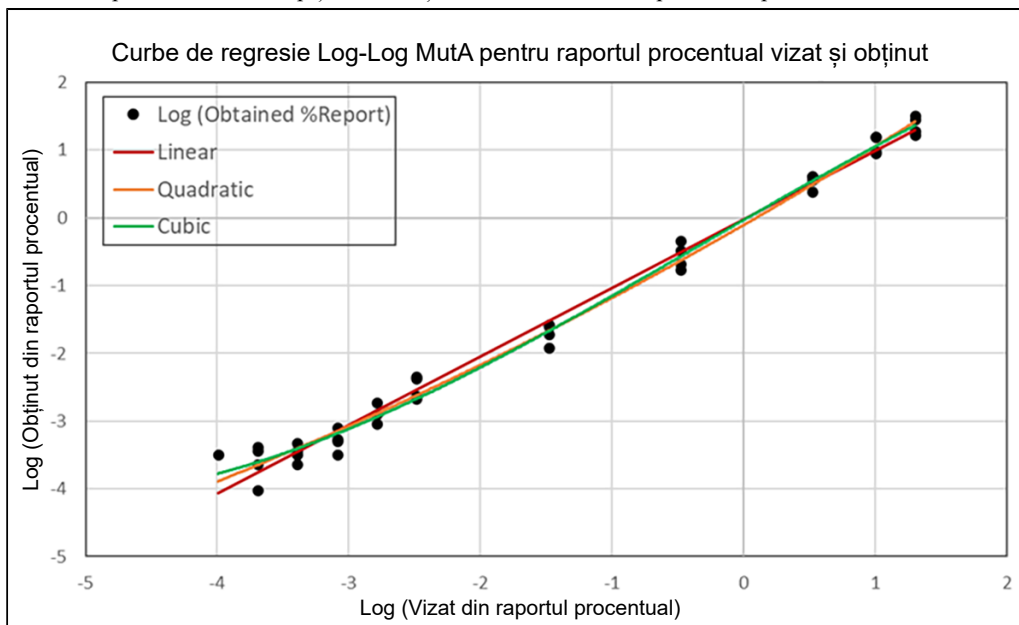


Figura 14. Curbele de regresie pentru muta

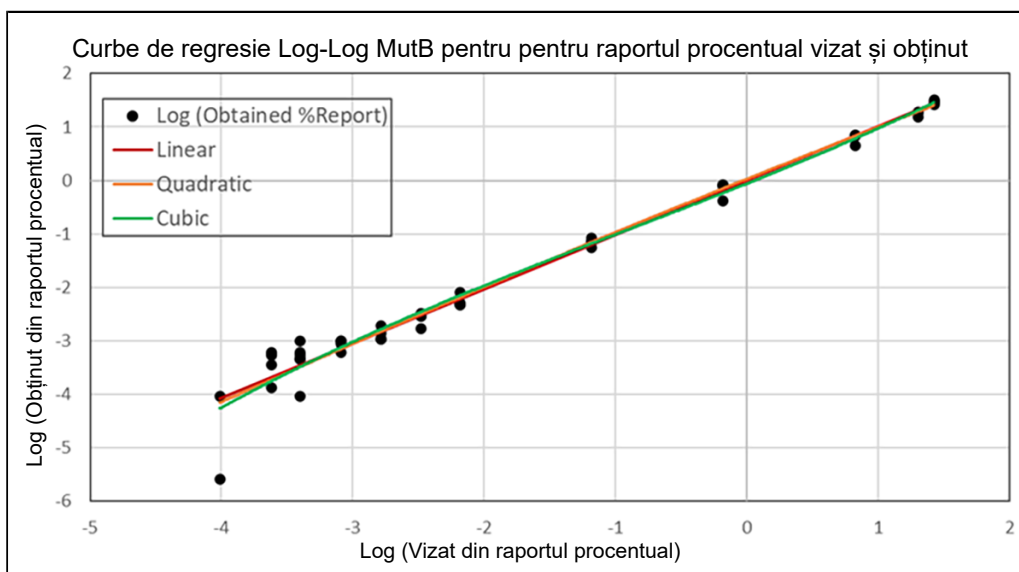


Figura 15. Curbele de regresie pentru mutB

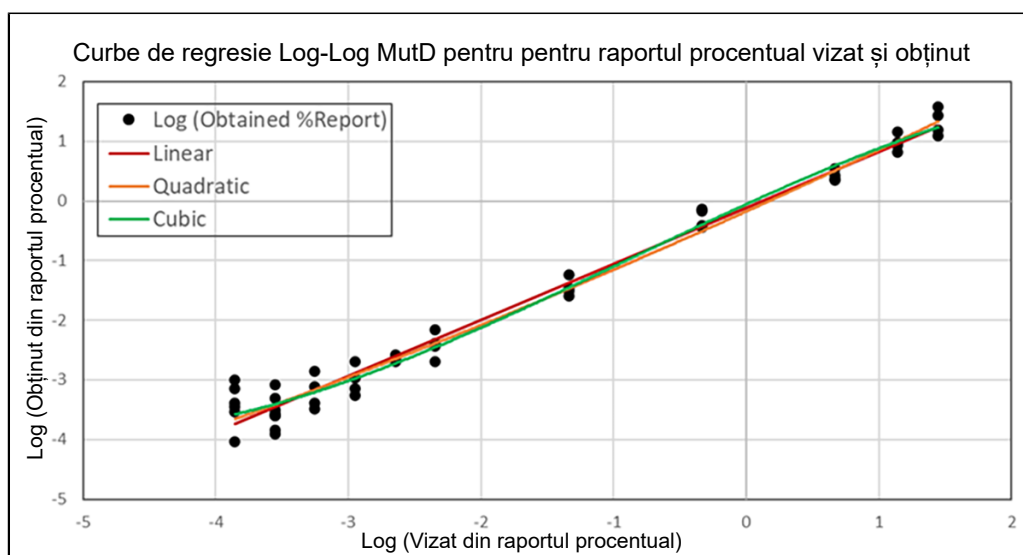


Figura 16. Curbele de regresie pentru mutD

Tabelul 4. Rezumatul intervalelor liniare și al coeficienților de model liniar

Subtip	Interval liniar	Ordonată la origine	Diferență de nivel	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

Colectiv, testul Xpert NPM1 Mutation a demonstrat liniaritate în intervalul 0,014-2020% mutație NPM1/ABL. Limita de LoQ și limita superioară a software-ului, intervalul dinamic raportabil este 0,030-500%.

## 22.2 Sensibilitate analitică (limita de detecție, limita de cuantificare, limita de blank)

Limita de detecție (LoD) este cel mai scăzut nivel al Mutației NPM1/ABL la care 95% dintre probe sunt raportate constant drept „Mutație NPM1 DETECTATĂ [##,##%]” (NPM1 Mutation DETECTED [##.##%]). LoD a fost determinată individual pentru subtipurile mutA, mutB și mutD prin testarea diluțiilor seriale ale lizatelor celulare cu mutație-NPM1 pozitivă și lizatelor clinice care cuprind fiecare subtip de mutație. LoD corespunzătoare au fost estimate și verificate în conformitate cu CLSI EP17-A2<sup>10</sup>. Analizele rezultate au generat o LoD de 0,025% pentru mutA, 0,023% pentru mutB și 0,030% pentru mutD (Tabelul 5). Cea mai ridicată LoD dintre cele trei subtipuri la 0,030% este stabilită drept LoD generală pentru testul Xpert NPM1 Mutation.

Limita de cuantificare (LoQ) este cel mai scăzut nivel al mutației NPM1/ABL peste care se pot cuantifica probele cu o abatere standard  $\leq 0,36$  reducere logaritmică (LR) pentru LR medii de peste 3,5. În conformitate cu CLSI EP17-A2<sup>10</sup>, LoQ au fost estimate și verificate la 0,025% pentru subtipul mutA, 0,023% pentru subtipul mutB și 0,030% pentru subtipul mutD (Tabelul 5). Cea mai ridicată LoQ dintre cele trei subtipuri la 0,030% este stabilită drept LoQ generală pentru testul Xpert NPM1 Mutation.

Limita de blank (LoB) este cel mai ridicat rezultat al mutației NPM1/ABL preconizat din 95% din probele martor de la donatori presupuși negativi la mutația NPM1. În conformitate cu CLSI EP17-A2<sup>10</sup>, LoB pentru testul Xpert NPM1 Mutation a fost estimată și verificată la 0,0085% (Tabelul 5).

**Tabelul 5. Limita de detecție, limita de cuantificare și limita de blanc pentru testul Xpert NPM1 Mutation [% mutație NPM1/ABL]**

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

## 22.3 Specificitate analitică

Specificitatea analitică a testului Xpert NPM1 Mutation a fost determinată prin testarea speciimenelor de sânge periferic tratate cu EDTA recoltate de la 25 de donatori sănătoși.

Nu s-a obținut niciun rezultat Mutație NPM1 **DETECTATĂ** (NPM1 Mutation DETECTED) de la niciunul dintre speciimenele presupuse negative pentru mutația NPM1 evaluate în cadrul acestui studiu. Astfel, testul Xpert NPM1 Mutation este specific pentru transcripturile ARNm NPM1 mutant (tipurile A, B și D în exonul 12) asociate cu LMA și are o specificitate analitică de 100% pentru speciimenele de sânge periferic EDTA.

## 22.4 Evaluarea contaminării prin transfer

A fost efectuat un studiu pentru a demonstra că cartușele GeneXpert de unică folosință, autonome, previn contaminarea prin transfer de la cartușele rulate secvențial în același modul al instrumentului. A fost testată o probă presupusă negativă la mutația NPM1 după o probă puternic pozitivă la mutația NPM1 în același modul GeneXpert. Schema de testare a fost repetată de 10 ori pe 2 module GeneXpert (22 negative și 20 pozitive în total). Toate rulările probei pozitive au returnat rezultatul preconizat „**Mutație NPM1 DETECTATĂ [#,##%] (NPM1 Mutation DETECTED [#,##%])**” și toate rulările probelor negative au returnat rezultatul preconizat „**Mutație NPM1 NEDETECTATĂ [#,##%] [Transcript ABL suficient] (NPM1 Mutation NOT DETECTED [Sufficient ABL transcript])**”.

## 22.5 Substanțe potențial interferente

În cadrul acestui studiu au fost evaluate 5 substanțe care pot fi prezente în speciimenele de sânge periferic EDTA cu potențialul de a interfera cu performanța testului. Compuși și nivelurile testate (consultați Tabelul 6) s-au bazat pe liniile directe din CLSI EP07-ED3<sup>11</sup>. Substanțele interferente au fost testate în speciimenele de sânge periferic EDTA, artificiale cu lizați de celule pozitive la mutația NPM1 de cultură, reprezentând trei niveluri: > 1%, 0,1 - 0,5% și negativ. Controalele de testare au constat din aceleași probe, fără substanțe care pot fi interferente. Fiecare nivel a fost testat în absența și în prezența celor 5 substanțe interferente individuale la 4 replicare per condiție. O substanță a fost considerată neinterferentă dacă, în prezența ei, raportul procentual mediu observat s-a încadrat în intervalul de 3 ori diferență în comparație cu controlul.

Nu s-au observat efecte inhibitoare semnificative din punct de vedere clinic asupra testului Xpert NPM1 Mutation cu oricare dintre substanțele interferente evaluate în acest studiu. Nu s-a observat nicio diferență semnificativă din punct de vedere statistic (valoarea  $p < 0,05$ ) în orice condiții de testare și rapoartele procentuale raportate între condițiile de testare și de control au fost în intervalul acceptabil de 3 ori.

**Tabelul 6. Substanțe potențial interferente testate utilizând Xpert NPM1 Mutation**

Substanțe interferente	Concentrație testată
Bilirubină neconjugată	20 mg/dl
Colesterol, total	500 mg/dl
Trigliceride, total (lipide)	3000 mg/dl
Heparină	3500 U/l
EDTA (eprubetă de recoltare scurtă)	930 mg/dl

## 23 Reproducibilitate și precizie

Studiul a fost conceput în conformitate cu principiile generale adoptate în standardul CLSI EP05-A3 pentru studiile cu factori multipli. S-a efectuat în 3 centre. Designul studiului a inclus membri ai grupului de probă, care au inclus mutațiile A, B și D cu 2 concentrații. 7 membri ai grupului au fost testați în duplicat, 2 rulări pe zi, un număr total de 6 zile de către fiecare dintre cei 2 operatori din 3 centre diferite (3 centre x 2 operatori x 3 loturi x 2 zile x 2 rulări x 2 replicare = 144 rezultate ale testului/membru al grupului). Grupurile de reproducibilitate și precizie au fost pregătite de Cepheid și constau din 7 membri ai grupului, așa cum se indică în Tabelul 7. Grupurile au fost realizate artificial într-o matrice de sânge periferic (PB) EDTA simulată.

**Tabelul 7. Grupurile de reproducibilitate și precizie**

Membru al grupului	Țintă	Raport procentual (PR) pentru nivel
1	Negativ	NA
2	Mutație NPM1 A	Moderat pozitiv (~5%)
3	Mutație NPM1 A	Slab pozitiv (~0,2%)
4	Mutație NPM1 B	Moderat pozitiv (~5%)
5	Mutație NPM1 B	Slab pozitiv (~0,2%)
6	Mutație NPM1 D	Moderat pozitiv (~5%)
7	Mutație NPM1 D	Slab pozitiv (~0,2%)

Numărul de probe cu rezultate valide pentru fiecare membru al grupului analizat de fiecare dintre cei 2 operatori din cele 3 centre este prezentat în Tabelul 8.

**Tabelul 8. Reproducibilitate și precizie: Număr de probe cu rezultate valide**

Membru al grupului	Centrul 1			Centrul 2			Centrul 3			Număr total de probe
	Op 1	Op 2	Centru	Op 1	Op 2	Centru	Op 1	Op 2	Centru	
1 Negativ	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 (raport ~5%)	(24/24)	(24/24)	(48/48)	(24/24)	(24/24)	(48/48)	(24/24)	(24/24)	(48/48)	(144/144)
3 LR2.7: mut A (raport ~0,2%)	(24/24)	(24/24)	(48/48)	(24/24)	(24/24)	(48/48)	(24/24)	(24/24)	(48/48)	(144/144)
4 LR1.3: mut B (raport ~5%)	(24/24)	(24/24)	(48/48)	(24/24)	(24/24)	(48/48)	(24/24)	(24/24)	(48/48)	(144/144)
5 LR2.7: mut B (raport ~0,2%)	(24/24)	(24/24)	(48/48)	(24/24)	(24/24)	(48/48)	(24/24)	(24/24)	(48/48)	(144/144)
6 LR1.3: mut D (raport ~5%)	(24/24)	(24/24)	(48/48)	(24/24)	(24/24)	(48/48)	(24/24)	(24/24)	(48/48)	(144/144)
7 LR2.7: mut D (raport ~0,2%)	(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> 2 specimene negative au avut rezultate valide dar detectate (FP)

<sup>b</sup> 1 specimen negativ a avut un rezultat valid dar detectat (FP)

<sup>c</sup> 1 specimen LR 2.7: mut D (raport ~0,2%) a avut un rezultat valid dar nedetectat (FN)

Rezultatele cantitative au fost analizate prin analiza imbricată a varianței (ANOVA) cu efecte și coeficient de variație (CV) aleatorii. Rezultatele calculelor ANOVA pentru abaterea standard și varianță pentru fiecare probă pozitivă sunt furnizate în Tabelul 9. Varianța și procentul de varianță totală generate de fiecare componentă (centru/instrument, operator, lot, zile, rulare) sunt indicate drept SD și contribuție procentuală pentru fiecare componentă.

**Tabelul 9. Rezultatele coeficientului de variație (CV): Raport procentual (PR)**

Membru al grupului	N	Medie	Centru		Op		Lot		Zi		Rulare		În cadrul aceleiași analize		Total	
			SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)
LR1.3: mut A (raport ~5%)	144	4,3%	0,00	6,14	0,00	0,00	0,00	4,29	0,00	8,91	0,00	4,36	0,01	17,83	0,01	21,74
LR2.7: mut A (raport ~0,2%)	144	0,2%	0,00	0,00	0,00	12,43	0,00	0,00	0,00	23,71	0,00	0,00	0,00	74,56	0,00	79,22
LR1.3: mut B (raport ~5%)	144	5%	0,00	8,24	0,00	0,00	0,01	11,50	0,00	7,19	0,00	0,00	0,01	20,88	0,01	26,23
LR2.7: mut B (raport ~0,2%)	144	0,2%	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	7,48	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	19,28	0,00	20,68
LR1.3: mut D (raport ~5%)	144	4,2%	0,00	5,15	0,00	0,00	0,01	12,91	0,00	8,78	0,00	0,00	0,01	18,30	0,01	24,60
LR2.7: mut D (raport ~0,2%)	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> 1 probă nu a fost detectată de NPM1 Xpert și a fost exclusă din analiză deoarece nu a existat nicio măsurătoare cantitativă.

Procentul de coeficient de variație (CV) total al raportului procentual care raportează valorile cantitative pentru probele moderat pozitive R1.3: mut A, mut B și mut D (raport ~5%) au variat între 21,74 și 26,23 și pentru probele slab pozitive LR2.7: mut A, mut B și mut D (raport ~0,2%) au variat între 20,68 și 79,22.



## 24 Referințe

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>. Accesat pe 16 septembrie 2020.
4. Kunchala P, Kuravi S, Jensen R, McGuirk J, Balusu R. When the good go bad: Mutant NPM1 in acute myeloid leukemia. *Blood Rev*. 2018; 32(3): 167-183. doi:10.1016/j.blre.2017.11.001
5. Heath EM, Chan SM, Minden MD, Murphy T, Shlush LI, Schimmer AD. Biological and clinical consequences of NPM1 mutations in AML. *Leukemia*. 2017; 31(4): 798-807. doi:10.1038/leu.2017.30
6. Centers for Disease Control and Prevention. Biosafety in Microbiological and Biomedical laboratories (consultați cea mai recentă ediție). <http://www.cdc.gov/biosafety/publications/>
7. Clinical and Laboratory Standards Institute. Protection of Laboratory Workers from Occupationally Acquired Infections; Approved Guideline. Document M29 (consultați cea mai recentă ediție).
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 Locațiile sediului central al Cepheid

### Sediul central

Cepheid  
904 Caribbean Drive  
Sunnyvale, CA 94089  
USA

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

### Sediul din Europa

Cepheid Europe SAS  
Vira Solelh  
81470 Maurens-Scopont  
France

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

## 26 Asistență tehnică

Înainte de a contacta Asistența tehnică Cepheid, colectați următoarele informații:

- Denumire produs
- Număr lot
- Număr de serie al instrumentului
- Mesaje de eroare (dacă există)
- Versiunea software și, dacă este cazul, numărul etichetei serviciului computerizat

### Statele Unite





















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

### Franța

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

Informațiile de contact pentru toate birourile de Asistență tehnică Cepheid sunt disponibile pe site-ul nostru web:  
[www.cepheid.com/en\\_US/support/contact-us](http://www.cepheid.com/en_US/support/contact-us).

## 27 Tabel de simboluri

Simbol	Semnificație
	Număr de catalog
	Marcaj CE – Conformitate europeană
	Dispozitiv medical de diagnosticare <i>in vitro</i>
	Cod lot
	A nu se reutiliza
	Consultați instrucțiunile de utilizare
	Producător
	Țara de fabricație
	Conține suficient pentru $n$ teste
	Control
	Data expirării
	Limită de temperatură
	Riscuri biologice
	Atenție
	Lichide inflamabile
	Toxicitate pentru sistemul reproducător și pentru organe
	Avertizare
	Reprezentant autorizat în Comunitatea Europeană
	Reprezentant autorizat în Elveția
	Importator



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



Cepheid Europe SAS  
Vira Solelh  
81470 Maurens-Scopont  
Franța  
Telefon: + 33 563 825 300  
Fax: + 33 563 825 301



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



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



## 28 Istoricul revizuirilor

Secțiunea	Descrierea modificării
23	S-a corectat eroarea din secțiunea „Reproductibilitate și precizie”.