

Xpert[®] NPM1 Mutation

REF GXNPM1-CE-10

Uputstvo za upotrebu

IVD CE

Obaveštenja o zaštitnim znakovima, patentima i autorskom pravu

Trademark, Patents, and Copyright Statements

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

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

© 2022–2023 Cepheid.

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

Cepheid[®], Cepheid logotip, GeneXpert[®] i Xpert[®] su zaštitni znakovi kompanije Cepheid, registrovani u SAD-u i drugim zemljama.

Svi ostali zaštitni znakovi su vlasništvo njihovih vlasnika.

KUPOVINA OVOG PROIZVODA PRENOSI KUPCU NEPRENOSIVO PRAVO DA GA KORISTI U SKLADU SA OVIM UPUTSTVOM ZA UPOTREBU. NIKAKVA DRUGA PRAVA SE NE PRENOSE IZRIČITO, IMPLIKACIJOM ILI ZABRANOM. ŠTAVIŠE, NIKAKVA PRAVA NA DALJU PRODAJU SE NE DOBIJAJU KUPOVINOM OVOG PROIZVODA.

© 2022–2023 Cepheid.

Za opis promena pogledajte Odeljak 28, Istoriju revizija.

Xpert[®] NPM1 Mutation

Za *In Vitro* dijagnostičku upotrebu.

1 Vlasničko ime

Xpert[®] NPM1 Mutation

2 Opšteprihvaćeni ili uobičajeni naziv

Xpert NPM1 Mutation

3 Namena

3.1 Predviđena upotreba

Test Xpert NPM1 Mutation, koji se izvodi na Cepheid GeneXpert[®] Dx System je *in vitro* dijagnostički test za kvantifikaciju mutiranih NPM1 mRNK transkripta (tipovi A, B i D na egzonu 12) u uzorcima periferne krvi kod pacijenata sa akutnom mijeloidnom leukemijom (AML). Test koristi automatizovanu lančanu reakciju polimeraze reverzne transkriptaze u realnom vremenu (RT-PCR) i izveštava o procentualnom odnosu mutiranih NPM1 u odnosu na ABL1 endogenu kontrolu mRNK transkripta. Test je namenjen kao pomoćno sredstvo u praćenju pacijenata sa NPM1-mutacijom u AML i to nivoa mutiranog NPM1 mRNK transkripta. Test treba koristiti zajedno sa ostalim kliničko-patološkim faktorima.

Test Xpert NPM1 Mutation ne razlikuje A, B ili D tip mutiranih NPM1 transkripta i ne detektuje, niti prati druge retke tipove mutiranog NPM1. Test nije namenjen za dijagnozu AML.

3.2 Predviđeni korisnik/okruženje

Xpert NPM1 Mutation test je namenjen izvođenju od strane obučениh korisnika u laboratorijskim uslovima.

4 Sažetak i objašnjenje

Akutna mijeloidna leukemija (AML) je karcinom mijeloidnih hematopoetskih matičnih ćelija u koštanoj srži^{1,2} i poznato je da može imati različite nukleofosminske (NPM1) mutacije na egzonu 12³. Insercija nukleotida na egzonu 12 dovodi do mutacije pomeranja okvira i kreiranja nukleusnog eksportnog signala (NES). Mutacije u NPM1 genu dovode do aberantne citoplazmatske lokalizacije NPM1 i NPM1-interaktivnih proteina. NPM1 je jedan od najčešće mutiranih gena u AML, a mutacije se događaju u 28% do 35% svih AML slučajeva. Iako se nekoliko lekova koji ciljaju na mutirani NPM1 trenutno ispituju, trenutno nema dostupnih FDA odobrenih ciljanih terapija.⁴

NPM1 gen kodira nukleusni transportni protein koji ima ulogu u biologiji centrozoma i ribozoma, kao i u regulaciji drugih ćelijskih sistema, uključujući putanje za supresiju tumora. NPM1 je nukleusni fosfoprotein koji služi kao transporter između nukleusa i citoplazme. On reguliše transport ribozomalnih čestica kroz nukleusnu membranu. NPM1 mutacije su prvi put otkrivene kod pojedinaca sa AML nakon uočavanja abnormalne citoplazmatske lokalizacije, a ne normalne nukleusne lokalizacije. Genetska procena blastocita u leukemiji u kombinaciji sa NPM1 lokacijom, dovela je do saznanja o mutacijama promene okvira na poznatom egzonu 12.³ Najčešće NPM1 mutacije su tipa A (~75-80%), tipa B (~10%) i tipa D (~5%), sve na egzonu 12, što dovodi do mutacije promene okvira u vidu insercije na četiri nukleotida. Mutacija izaziva gubitak nukleusnog lokalizacionog signala i aberantnu citoplazmatsku lokaciju proteina kod pacijenata sa AML.⁵

5 Princip postupka

Test Xpert NPM1 Mutation je automatizovana analiza za kvantifikaciju količine NPM1 mutiranog transkripta kao odnos NPM1 mutacija/ABL1. Test se izvodi na Cepheid GeneXpert Dx System, koji automatizuje i integriše prečišćavanje uzorka, amplifikaciju nukleinske kiseline i detekciju ciljane sekvence u prostim i složenim uzorcima, pomoću RT-PCR u realnom vremenu i ugnježdenih PCR analiza. Sistem se sastoji od instrumenta, računara i unapred instaliranog softvera za obavljanje analiza i pregled rezultata. Sistem zahteva upotrebu jednokratnih GeneXpert patrona koje sadrže RT-PCR i ugnježdene PCR reagense i koji su domaćini RT-PCR i ugnježdenih PCR procesa. Za pun opis sistema, pogledajte odgovarajući odeljak *GeneXpert Dx System Operator Manual*.

Test Xpert NPM1 Mutation uključuje reagense za detekciju NPM1 mutacije i ABL1 transkripta kao endogene kontrole u uzorcima periferne krvi. Količina NPM1 mutiranog transkripta je kvantifikovana kao procentualni odnos NPM1 mutacije/ABL1. Postoje dve kontrole koje su uključene u Xpert NPM1 Mutation test – endogena kontrola (ABL1) i kontrola provere probe (PCC). ABL1 endogena kontrola normalizuje NPM1 mutirani cilj i obezbeđuje da je dovoljno uzorka korišćeno u analizi. PCC verifikuje rehidraciju reagensa, punjenje PCR epruvete, kao i to da su sve reakcione komponente, uključujući probe i boje, prisutne i funkcionalne u patroni.

6 Reagensi i instrumenti

6.1 Priloženi materijali

Komplet Xpert NPM1 Mutation (GXNPM1-CE-10) sadrži dovoljno reagenasa za obradu 10 uzoraka, ili uzoraka za kontrolu kvaliteta. Komplet sadrži sledeće:

Xpert NPM1 Mutation Reagensi **10 od svakog po kompletu**

Proteinaza K (PK)	10 x 130 µl po bočici
Komponenta	Sastojci reagensa
Proteinaza K	< 5%

Reagens za lizu (LY) (gvanidinijum-hlorid)	10 x 5,3 ml po bočici
Komponenta	Sastojci reagensa
Gvanidinijum-hlorid	25 - 50%
Urea	25 - 50%
Natrijum-dodecil sulfat	< 2%

Reagens za pranje	10 x 2,9 ml po ampuli
Komponenta	Sastojci reagensa
Etanol	< 50%
Gvanidinijum-tiocijanat	< 50%

Xpert NPM1 Mutation Patrone sa integrisanim reakcionim epruvetama		10 po kompletu
Komponenta	Sastojci reagensa	Količina
Zrno 1 (osušeno zamrzavanjem)	Enzim: Taq DNK polimeraza < 50U/zrno	1 po patroni
	dNTPs < 0,05%	
Zrno 2 (osušeno zamrzavanjem)	Prajmeri i probe < 0,005%	1 po patroni
Zrno 3 (osušeno zamrzavanjem)	Prajmeri i probe < 0,005%	1 po patroni
Zrno 4 (osušeno zamrzavanjem)	Enzim: Taq DNK polimeraza < 50U/zrno	1 po patroni
	dNTPs < 0,05%	
Reagens za ispiranje	Kalijum-hlorid < 4%	2 ml po patroni
	Natrijum-azid < 0,1%	
	Polietilen-glikol < 40%	
	Polisorbat-20 < 0,2%	
Reagens za eluciju	Trizma baza < 0,3%	2,5 ml po patroni
	Trizma-hidrohlrorid < 0,1%	
	Natrijum-azid < 0,05%	

CD**1 po kompletu**

- Datoteka za definiciju testa (ADF)
- Uputstvo za uvoz ADF u GeneXpert softver
- Uputstvo za upotrebu

Напомена

Goveđi serumski albumin (BSA) u zrnima ovog proizvoda napravljen je i proizveden isključivo od goveđe plazme poreklom iz Sjedinjenih Država. Životinjama nije davan nijedan protein preživara ili drugi proteini životinjskog porekla; životinje su prošle ante- i post-mortem testiranje. Tokom obrade nije bilo mešanja materijala sa drugim životinjskim materijalima.

Напомена

Sertifikati analize i listovi sa podacima o specifikaciji serije dostupni su putem tehničke podrške kompanije Cepheid.

7 Materijali koji su potrebni, ali nisu obezbeđeni

- GeneXpert Dx System (kataloški broj se razlikuje u zavisnosti od konfiguracije): GeneXpert instrument, računar, bar-kod skener i priručnik za operatera.
- Za GeneXpert Dx System: GeneXpert Dx verzija softvera 6.2 ili novija.
- Štampač: Ako je štampač neophodan, kontaktirajte Cepheid tehničku podršku da dogovorite kupovinu preporučenog štampača.
- Vorteks mešalica
- Mikrocentrifuga (1000 x g minimum)
- Pipete i vrhovi pipeta sa filterom za aerosoli
- Konusne epruvete od 50 ml
- Reagens gradusa apsolutnog etanola
- 1X PBS, pH 7,4

8 Skladištenje i rukovanje

- Čuvajte sadržaj Xpert NPM1 Mutation kompleta na temperaturi od 2°C do 8°C do isteka roka trajanja koji se nalazi na nalepnici.
- Nemojte otvarati poklopac patrone dok niste spremni za testiranje.
- Nemojte koristiti patrone kojima je istekao rok trajanja.
- Nemojte koristiti patronu koja je procurela.
- Reagens za pranje je providna, bezbojna tečnost. Nemojte koristiti reagens za pranje koji je postao zamućen ili je promenio boju.
- Dvadeset (20) minuta pre početka postupka, izvadite uzorak krvi, patronu i reagens za pripremu uzoraka, kako biste ih izjednačili sa sobnom temperaturom (20°C do 30°C).

9 Upozorenja i mere predostrožnosti

9.1 Opšte informacije

- Za *in vitro* dijagnostičku upotrebu.
- Tretirajte sve biološke uzorke, uključujući i iskorišćene patrone i reagens, kao da mogu da prenesu infektivne agense. Kako često nije moguće znati šta bi moglo biti zarazno, svi biološki uzorci treba da se tretiraju standardnim merama predostrožnosti.
- Smernice za rukovanje uzorcima dostupne su u američkim Centrima za kontrolu i prevenciju bolesti⁶ i Institutu za kliničke i laboratorijske standarde.⁷
- Pridržavajte se sigurnosnih procedura koje propisuje vaša ustanova za rad sa hemikalijama i rukovanje biološkim uzorcima.
- Karakteristike performansi ovog testa utvrđene su samo za krv prikupljenu u EDTA epruvete. Funkcija analize nije procenjena na drugim tipovima uzoraka.
- Pouzdani rezultati zavise od adekvatnog prikupljanja, transporta, skladištenja i obrade uzoraka. Netačni rezultati analize se događaju zbog nepravilnog prikupljanja, rukovanja ili čuvanja uzorka, tehničke greške, zamene uzoraka, ili zbog toga što je broj ciljnih transkripta u uzorku ispod granice detekcije za analizu. Da bi se izbegli pogrešni rezultati, neophodno je pažljivo poštovanje ovog Uputstva za upotrebu i *GeneXpert Dx System Operator Manual*.
- Izvođenje testa Xpert NPM1 Mutation van preporučenih opsega za temperaturu i vreme skladištenja kompleta ili uzorka, može proizvesti pogrešne ili nevažeće rezultate.
- Biološke uzorke, sredstva za prenos i korišćene patrone treba smatrati sposobnim da prenose infektivne agense i zahtevaju standardne mere predostrožnosti. Pridržavajte se procedura za pravilno odlaganje iskorišćenih patrona i neiskorišćenih reagenasa u vašoj ustanovi. Ovi materijali mogu imati karakteristike hemijski opasnog otpada i zahtevaju posebne nacionalne ili regionalne procedure za odlaganje. Ako nacionalni ili regionalni propisi ne daju jasne smernice o pravilnom odlaganju, biološke uzorke i iskorišćene patrone treba odlagati prema smernicama WHO (SZO, Svetska zdravstvena organizacija) za rukovanje i odlaganje medicinskog otpada.⁸

9.2 Uzorak

- Održavajte odgovarajuće uslove skladištenja kako biste obezbedili integritet uzorka (pogledajte Odeljak 11, Prikupljanje i skladištenje uzorka). Stabilnost uzorka u uslovima transporta koji nisu preporučeni, nije procenjena.
- Ne zamrzavajte EDTA uzorke periferne krvi.
- Pravilno prikupljanje, skladištenje i transport su esencijalni za tačne rezultate.


9.3 Test/reagens

- Nemojte zamenjivati Xpert NPM1 Mutation reagens sa drugim reagensima.
- Nemojte otvarati poklopac Xpert NPM1 Mutation patrone osim kad dodajete uzorak i reagens za pranje.
- Nemojte koristiti patronu koja je pala nakon što ste je izvadili iz pakovanja.
- Nemojte protresati patronu. Protresanje ili ispuštanje patrone nakon otvaranja poklopca patrone može dovesti do nevažećih rezultata.
- Nemojte stavljati nalepnicu za ID uzorka na poklopac patrone ili na nalepnicu sa bar-kodom patrone.
- Nemojte koristiti patronu sa oštećenom nalepnicom sa bar-kodom.

- Nemojte koristiti patronu čija je reakciona epruveta oštećena.
- Preporučuje se da Xpert NPM1 Mutation patrone budu na sobnoj temperaturi (20°C do 30°C) kad se koriste za testiranje.
- Svaka jednokratna Xpert NPM1 Mutation patrona koristi se za obradu jedne analize. Nemojte ponovo koristiti obrađene patrone.
- Prenesite celokupan sadržaj jedne (1) ampule reagensa za pranje u komoru za reagens za pranje. Ako se ne doda reagens za pranje, može doći do lažnog rezultata **NIJE DETEKTOVANO (NOT DETECTED)**.
- Nemojte ponovo koristiti vrhove pipeta.
- Ne koristite patronu ako se čini da je mokra ili ako se čini da je zaptivka poklopca polomljena.
- Nemojte koristiti Xpert NPM1 Mutation patronu ako je reagens dodat u pogrešan otvor.
- Nemojte otvarati Xpert NPM1 Mutation patrone nakon završetka analize.
- Izaberite komplet pipeta i reagenasa koji će se koristiti isključivo za pripremu uzorka.
- Nosite čiste laboratorijske mantile i rukavice. Menjajte rukavice između rukovanja uzoraka.
- U slučaju prosipanja uzoraka ili kontrola, nosite rukavice i upijte prosutu tečnost papirnim ubrusima. Nakon toga, temeljno očistite kontaminiranu oblast rastvorom sveže pripremljenog izbeljivača na bazi hlora za kućnu upotrebu u odnosu 1:10. Konačna koncentracija aktivnog hlora treba da bude 0,5% bez obzira na koncentraciju izbeljivača za kućnu upotrebu u vašoj zemlji. Vreme kontakta treba da bude najmanje dva minuta.
- Uverite se da je radna oblast suva pre nego što upotrebite 70% denaturisani etanol da uklonite ostatke izbeljivača. Sačekajte da se površine potpuno osuše pre nego što nastavite. Alternativno, sledite standardne procedure vaše ustanove za slučaj kontaminacije ili prosipanja. Za opremu, sledite preporuke proizvođača za dekontaminaciju opreme.

10 Opasnosti od hemikalija

Hanomena Informacije u nastavku odnose se na ceo proizvod koji sadrži proteinazu K, reagens za lizu, pranje i ispiranje.

- CLP/GHS piktogram opasnosti: 
- Signalna reč: OPASNOST
- **UN GHS obaveštenja o opasnosti**
 - Visoko zapaljiva tečnost i isparenja H225.
 - Izaziva iritaciju kože H315.
 - Izaziva ozbiljnu iritaciju očiju H319.
 - Može izazvati pospanost ili vrtoglavicu H336.
 - Sumnja se da izaziva genetske defekte H341.
- **UN GHS obaveštenja o merama predostrožnosti**
 - **Prevenција**
 - Pre upotrebe pogledajte List sa bezbednosnim podacima za specijalna uputstva.
 - Pre upotrebe potražite posebno uputstvo.
 - Nemojte rukovati proizvodom pre nego što pročitate i razumete sve bezbednosne mere predostrožnosti.
 - Držite dalje od toplote, varnica, otvorenog plamena i/ili vrelih površina. Zabranjeno pušenje.
 - Držite ambalažu čvrsto zatvorenom.
 - Izbegavajte udisanje izmaglice/isparenja/spreja.
 - Temeljno oprati nakon rukovanja.
 - Koristite samo napolju ili na dobro provetrenom mestu.
 - Nosite zaštitne rukavice/zaštitnu oděcu/zaštitu za oči/zaštitu za lice.
 - Po potrebi koristite ličnu zaštitnu opremu.
 - **Reagovanje**
 - U slučaju POŽARA: Koristiti odgovarajuće sredstvo za gašenje požara.
 - AKO SE UDAHNE: Izvesti žrtvu na svež vazduh i staviti je da miruje u položaju koji je ugodan za disanje.
 - Pozvati CENTAR ZA KONTROLU TROVANJA ili se obratiti lekaru ako se ne osećate dobro.
 - U DODIRU SA KOŽOM (ili kosom): Odmah skinuti svu kontaminiranu oděcu. Isprati kožu vodom / istuširati se.
 - Za specifično lečenje pogledajte dodatak sa informacijama o merama prve pomoći.
 - Skinite kontaminiranu oděcu i operite je pre ponovne upotrebe.
 - Ako dođe do iritacije kože: Potražiti medicinski savet/mišljenje.

- AKO DOSPE U OČI: Pažljivo ispirati vodom nekoliko minuta. Ukloniti kontaktna sočiva, ukoliko postoje i ukoliko je to moguće učiniti. Nastaviti sa ispiranjem.
- Ako iritacija oka ne prolazi: Potražiti medicinski savet/mišljenje.
- Ako ste izloženi ili vas brine da ste izloženi: Potražiti medicinski savet/mišljenje.
- **Skladištenje/odlaganje**
 - Držite na hladnom.
 - Držite na dobro provetrenom mestu.
 - Držite ambalažu čvrsto zatvorenom.
 - Skladištiti zaključano.
 - Odlagati sadržaj i/ili kontejner u skladu sa lokalnim, regionalnim, nacionalnim i/ili internacionalnim propisima.

11 Prikupljanje i skladištenje uzoraka

- Uzorke periferne krvi treba prikupiti u EDTA epruvete poštujući smernice vaše ustanove. Plazmu ne treba odvajati od ćelija.
- Uzorke treba čuvati na temperaturi od 2°C do 8°C ne duže od 3 dana (72 sata) pre testiranja.
- Pravilno prikupljanje uzoraka i skladištenje su kritični za funkciju analize. Stabilnost uzorka u uslovima skladištenja koji nisu preporučeni u nastavku u Odeljak 12, Postupak, nije procenjena sa testom Xpert NPM1 Mutation.

12 Postupak

12.1 Pre nego što počnete

Dvadeset (20) minuta pre početka postupka, izvadite uzorak krvi, reagens za pripremu uzoraka i patrone iz frižidera, kako biste ih izjednačili sa sobnom temperaturom. Kratko centrifugirajte proteinazu K (PK) u mikrocentrifugi.

Важно Započnite analizu u roku od 1 sata od dodavanja uzorka tretiranog reagensom za uzorke u patronu.

Важно Izvadite patronu iz kartonskog pakovanja pre pripreme uzorka. (Pogledajte Odeljak 12.3, Priprema patrone).

12.2 Priprema uzorka

12.2.1 Priprema uzorka sa nepoznatim brojem leukocita (WBC) ili uzorka sa manje od 30 miliona WBC/ml

1. Na dno nove konusne, obeležene epruvete od 50 ml dodajte 100 µl proteinaze K (PK).
2. Pobrinite se za to da se uzorak krvi dobro pomeša okretanjem epruvete za prikupljanje krvi gore-dole 8 puta odmah nakon pipetiranja. Pogledajte uputstva proizvođača za EDTA epruvetu za prikupljanje krvi.
3. Epruveta već sadrži PK, dodajte 4 ml uzorka krvi.
4. Pomešajte uzorak u vorteks mešalici pri maksimalnom podešavanju, neprekidno u toku 3 sekunde.
5. Inkubirajte uzorak na sobnoj temperaturi 1 minut.
6. U istu epruvetu dodajte 2,5 ml reagensa za lizu (LY).

Напомена Sačuvajte preostali reagens za lizu da biste ga koristili ponovo u koraku 13.

7. Pomešajte uzorak u vorteks mešalici pri maksimalnom podešavanju, neprekidno u toku 10 sekundi.
8. Inkubirajte uzorak na sobnoj temperaturi 5 minuta.
9. Pomešajte uzorak u vorteks mešalici pri maksimalnom podešavanju, neprekidno u toku 10 sekundi.
10. Inkubirajte uzorak na sobnoj temperaturi 5 minuta.
11. Pomešajte uzorak lupkanjem po dnu epruvete 10 puta.
12. Prenesite 1 ml pripremljenog lizata u novu konusnu, obeleženu epruvetu od 50 ml.

Напомена

Preostali lizat se može čuvati na temperaturi od 2°C do 8°C do 48 sati, ili čuvati na temperaturi od -20°C ili niżej do mesec dana.

13. U novu konusnu epruvetu koja sadrži lizat, dodajte 1,5 ml preostalog LY iz koraka 6.
14. Pomešajte uzorak u vorteks mešalici pri maksimalnom podešavanju, neprekidno u toku 10 sekundi.
15. Inkubirajte uzorak na sobnoj temperaturi 10 minuta.
16. U istu konusnu epruvetu dodajte 2 ml reagensa gradusa apsolutnog etanola (treba da obezbedi korisnik).
17. Pomešajte uzorak u vorteks mešalici pri maksimalnom podešavanju, neprekidno u toku 10 sekundi. Odložite sa strane.
18. Bacite sve preostale PK i LY reagense.

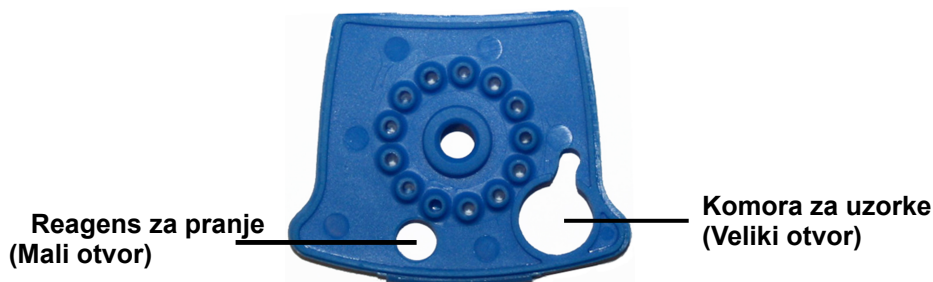
12.2.2 Priprema uzorka sa brojem WBC jednako ili većim od 30 miliona WBC/ml

1. Na dno nove konusne epruvete od 50 ml dodajte 100 µl PK.
2. Pobrinite se za to da se uzorak krvi dobro pomeša okretanjem epruvete za prikupljanje krvi gore-dole 8 puta odmah nakon pipetiranja. Pogledajte uputstva proizvođača za EDTA epruvetu za prikupljanje krvi.
3. U epruvetu koja već sadrži PK, dodajte 250 µl uzorka krvi i 3,75 ml 1xPBS (pH 7,4, obezbeđuje korisnik).
4. Pomešajte uzorak u vorteks mešalici pri maksimalnom podešavanju, neprekidno u toku 3 sekunde.
5. Inkubirajte uzorak na sobnoj temperaturi 1 minut.
6. Sledite korake 6-17 u Odeljak 12.2.1 kako biste napravili konačni lizat.
7. Bacite sve preostale PK i LY reagense.

12.3 Priprema patrone

Da biste dodali uzorak u Xpert NPM1 Mutation patronu:

1. Izvadite patronu iz kartonskog pakovanja.
2. Pregledajte patronu na oštećenja. Ako je oštećena, nemojte je koristiti.
3. Otvorite patronu tako što ćete podići poklopac patrone i prebacite celokupan sadržaj jedne (1) ampule reagensa za pranje u komoru za reagens za pranje (sa malim otvorom). Pogledajte Slika 1.
4. Pipetirajte celokupan sadržaj pripremljenog uzorka (4,5 ml) u komoru za uzorke (veliki otvor). Pogledajte Slika 1.



Slika 1. Xpert NPM1 Mutation Patrona (gornja strana)

5. Zatvorite poklopac patrone. Uverite se da je poklopac čvrsto ulegao na mesto. Započnite analizu (pogledajte Odeljak 12.4, Započinjanje analize).

12.4 Započinjanje analize

Важно Pre započinjanja analize, uverite se da sistem radi na GeneXpert Dx verziji softvera 6.2 ili novijoj, kao i da je u softver uvezena ispravna datoteka za definiciju analize. Ovaj odeljak navodi podrazumevane korake za rukovanje GeneXpert Dx System.

Напомена

Koraci koje pratite mogu se razlikovati ako je administrator sistema promenio podrazumevani tok rada sistema.

1. Uključite GeneXpert sistem tako što ćete najpre uključiti GeneXpert Dx instrument, a zatim uključiti računar. Softver GeneXpert Dx će se automatski pokrenuti ili će možda biti potrebno dvaput kliknuti na ikonu prečice za GeneXpert Dx softver na Windows® radnoj površini.
2. Prijavite se na softver GeneXpert koristeći svoje korisničko ime i lozinku.

3. U prozoru **GeneXpert Dx sistema**, kliknite na **Kreiraj test (Create Test)** (GeneXpert Dx). Otvara se prozor **Kreiraj test (Create Test)**.
4. Skenirajte ili ukucajte ID pacijenta (Patient ID). Ako unosite ID pacijenta (Patient ID), pobrinite se da ID pacijenta (Patient ID) bude tačno upisan. ID pacijenta je povezan sa rezultatima testa i prikazuje se u prozoru **Prikaz rezultata (View Results)** i u svim izveštajima. Otvara se okvir za dijalog **Skeniraj barkod za ID uzorka (Scan Sample ID barcode)**.
5. Skenirajte ili unesite ID uzorka (Sample ID). Ako unosite ID uzorka (Sample ID), pobrinite se da ID uzorka (Sample ID) bude tačno unet. ID uzorka (Sample ID) je prikazan na levoj strani prozora **Prikaz rezultata (View Results)** i na svim izveštajima. Otvara se okvir za dijalog **Skeniraj barkod patrone (Scan Cartridge barcode)**.
6. Skenirajte barkod na Xpert NPM1 Mutation patroni. Korišćenjem informacija sa bar-koda, softver automatski popunjava sledeća polja: ID serije reagensa (Reagent Lot ID), SN patrone (Cartridge SN) i datum isteka roka (Expiration Date).

Напомена

Ako se bar-kod na Xpert NPM1 Mutation patroni ne skenira, ponovite analizu sa novom patronom. Ako ste skenirali bar-kod patrone u softveru i datoteka za definiciju testa nije dostupna, pojavice se ekran koji pokazuje da datoteka za definiciju testa nije učitana u sistem. Ako se pojavi ovaj ekran, obratite se tehničkoj podršci kompanije Cepheid.

7. Kliknite na **Pokreni test (Start Test)**. Možda će biti potrebno da ukucate vašu lozinku u okviru za dijalog koji se pojavi.
8. Otvorite vrata modula instrumenta na kojima trepće zeleno svetlo i ubacite patronu.
9. Zatvorite vrata. Test započinje i zeleno svetlo prestaje da trepće. Kada je analiza završena, svetlo se gasi.
10. Sačekajte dok sistem ne otpusti bravu vrata pre nego što otvorite vrata modula i izvadite patronu.
11. Bacite iskorišćene patrone u odgovarajući kontejner za otpad za uzorke u skladu sa standardnom praksom vaše ustanove.

Напомена

Vreme do rezultata je manje od 3 sata (približno 30 minuta kad se uzorak priprema van instrumenta i manje od 2,5 sata za vreme ciklusa analize).

13 Prikazivanje i štampanje rezultata

Ovaj odeljak navodi osnovne korake za prikazivanje i štampanje rezultata. Za detaljnija uputstva o tome kako pregledati i odštampati rezultate, pogledajte *GeneXpert Dx System Operator Manual*.

- Kliknite na ikonu **Prikaz rezultata (View Results)** da pregledate rezultate.
- Po završetku analize, kliknite na dugme **Izveštaj (Report)** na ekranu **Prikaz rezultata (View Results)** da biste pogledali i/ili generisali PDF datoteku izveštaja.

14 Kontrola kvaliteta

Svaka patrona uključuje ABL1 endogenu kontrolu i kontrolu provere probe (PCC).

ABL1 endogena kontrola — ABL1 endogena kontrola potvrđuje da je dovoljno uzorka korišćeno u analizi. Pored toga, ova kontrola detektuje inhibiciju PCR analize u realnom vremenu povezanu sa uzorkom. ABL1 je uspešna ako ispunjava dodeljene kriterijume prihvatljivosti.

Kontrola provere probe (PCC) — Pre početka PCR reakcije, GeneXpert sistem meri fluorescentni signal sa proba kako bi nadgledao rehidrataciju zrna, punjenje reakcione epruvete, kao i to da su sve reakcione komponente funkcionalne u patroni. PCC je uspešna ako ispunjava dodeljene kriterijume prihvatljivosti.

15 Tumačenje rezultata

Rezultati se tumače automatski putem GeneXpert sistema iz izmerenih fluorescentnih signala i ugrađenih algoritama proračuna i prikazani su u prozoru Prikaz rezultata (View Results). Mogući rezultati i tumačenja prikazani u Tabela 1.

Tabela 1. Xpert NPM1 Mutation Rezultati i tumačenje testa

Rezultat	Tumačenje
<p>NPM1 mutacija DETEKTOVANA (NPM1 Mutation DETECTED)</p> <p>Pogledajte Slika 2, Slika 3, Slika 4</p>	<p>Detektovan je NPM1 mutirani transkript.</p> <ul style="list-style-type: none"> NPM1 mutacija DETEKTOVANA (NPM1 Mutation DETECTED) – NPM1 mutirani transkript je detektovan i ima prag ciklusa (Ct) unutar važećeg opsega i krajnju tačku iznad podešenog praga. Mogući detektovani rezultati: <ul style="list-style-type: none"> NPM1 MUTACIJA DETEKTOVANA [#.###%] (NPM1 MUTATION DETECTED [#.###%]); Slika 2. NPM1 MUTACIJA DETEKTOVANA [iznad gornje LoQ] (NPM1 MUTATION DETECTED [Above upper LoQ]); Slika 3. NPM1 MUTACIJA DETEKTOVANA [ispod LoD; <#.###%] (NPM1 MUTATION DETECTED [Below LoD; #.###%]); Slika 4. ABL – USPEŠNO (PASS); ABL transkript je detektovan i ima prag ciklusa (Ct) unutar važećeg opsega i krajnju tačku iznad podešenog praga. Provera probe USPEŠNO (PASS) – svi rezultati provere probe su uspešni.
<p>NPM1 mutacija NIJE DETEKTOVANA (NPM1 Mutation NOT DETECTED)</p> <p>Pogledajte Slika 5</p>	<p>NPM1 mutirani transkript nije detektovan.</p> <ul style="list-style-type: none"> NPM1 mutacija NIJE DETEKTOVANA [Dovoljno ABL transkripta] (NPM1 Mutation NOT DETECTED [Sufficient ABL transcript]) – NPM1 mutirani transkript nije detektovan i ima prag ciklusa (Ct) nula ili iznad gornje vrednosti važećeg opsega i/ili krajnju tačku ispod podešenog praga. ABL – USPEŠNO (PASS); ABL transkript je detektovan i ima prag ciklusa (Ct) unutar važećeg opsega i krajnju tačku iznad podešenog praga. Provera probe USPEŠNO (PASS) – svi rezultati provere probe su uspešni.
<p>NEVAŽEĆI (INVALID)</p> <p>Pogledajte Slika 6, Slika 7, Slika 8, Slika 9, Slika 10</p>	<p>Nivo NPM1 mutiranog transkripta ne može biti određen zbog uzorka koji sadrži previše NPM1 mutiranog transkripta i/ili prekomerno ili nedovoljno ABL transkripta. Pogledajte Odeljak 18, Vodič za rešavanje problema za dodatna uputstva za ponovno testiranje uzorka.</p> <ul style="list-style-type: none"> NPM1 mutacija NEVAŽEĆI (NPM1 Mutation INVALID) – NPM1 prag ciklusa (Ct) bio je iznad nule i ispod donje vrednosti važećeg opsega (Slika 8, Slika 9) ABL NEUSPEŠNO (FAIL) – ABL prag ciklusa (Ct) nije unutar važećeg opsega ili je krajnja tačka bila ispod podešenog praga (Slika 6, Slika 7, Slika 8, Slika 10) Provera probe – USPEŠNO (PASS); svi rezultati provere probe su uspešni.
<p>GREŠKA (ERROR)</p> <p>Pogledajte Slika 11</p>	<p>NPM1 mutirani transkript ne može biti određen. Pogledajte Odeljak 18, Vodič za rešavanje problema za dodatna uputstva za ponovno testiranje uzorka.</p> <ul style="list-style-type: none"> NPM1 mutacija NEMA REZULTATA (NO RESULT) ABL NEMA REZULTATA (NO RESULT) Provera probe NEUSPEŠNO (FAIL) – svi ili jedan od rezultata provere probe je neuspešan. Provera prove USPEŠNO (PASS) ILI NP (nije primenjivo) (NA) i Obustava pritiska* (Pressure Abort*). <p>*Ako je provera probe uspešna, grešku je prouzrokovalo maksimalno prekoračenje ograničenja pritiska koje prelazi prihvatljivi opseg ili kvar sistemske komponente.</p>
<p>NEMA REZULTATA (NO RESULT)</p>	<p>NPM1 mutirani transkript ne može biti određen. Prikupljeno je nedovoljno podataka za proizvodnju rezultata analize. Na primer, ovo se može dogoditi ako je operater zaustavio analizu dok je ona bila u toku. Pogledajte Odeljak 18, Vodič za rešavanje problema za dodatna uputstva za ponovno testiranje uzoraka.</p> <ul style="list-style-type: none"> NPM1 mutacija NEMA REZULTATA (NO RESULT) ABL NEMA REZULTATA (NO RESULT) Provera probe NP (nije primenjivo) (NA)

16 Kvantitativni rezultati

Xpert NPM1 Mutation kvantitativni izlazi su dati u procentualnom odnosu NPM1 mutacije/ABL1. Kompleti su dodeljeni prema vrednostima efikasnosti specifične za seriju ($E_{\Delta Ct}$) i faktora skaliranja (SF), koje obavezuju kvantifikaciju NPM1 mutiranih (A, B i D) i ABL1 transkripta za kopiranje brojeva sintetičkih NPM1 mutacija i ABL1 *in vitro* transkribovane RNK (IVT-RNK) primarnih standarda.

Tabela 2. Primeri Xpert NPM1 Mutation rezultata testa

Analiza	NPM1 mutant		ABL		Xpert NPM1 Mutation Rezultati testa	Napomene
	Ct	Rezultat ^a	Ct	Rezultat ^a		
1	5,2	NEVAŽEĆI (INVALID)	5,8	NEUSPEŠNO (FAIL)	NEVAŽEĆI [Previše NPM1 mutiranih i ABL transkripta] (INVALID [Too high NPM1 Mutation and ABL transcripts])	NA
2	9	NEVAŽEĆI (INVALID)	5,5	NEUSPEŠNO (FAIL)	NEVAŽEĆI [Previše ABL transkripta] (INVALID [Too high ABL transcripts])	NA
3	5,5	NEVAŽEĆI (INVALID)	8,5	USPEŠNO (PASS)	NEVAŽEĆI [Previše NPM1 mutiranih transkripta] (INVALID [Too high NPM1 Mutation transcripts])	NA
4	25,0	NEVAŽEĆI (INVALID)	21,8	NEUSPEŠNO (FAIL)	NEVAŽEĆI [Nedovoljno ABL transkripta] (INVALID [Insufficient ABL transcript])	NA
5	0	NEVAŽEĆI (INVALID)	0	NEUSPEŠNO (FAIL)	NEVAŽEĆI [Nema ABL transkripta] (INVALID [No ABL transcript])	NA
6	8,5	POZ.	13,6	USPEŠNO (PASS)	NPM1 mutacija DETEKTOVANA [iznad gornje LoQ] (NPM1 Mutation DETECTED [Above upper LoQ])	NA
7	22,5	POZ.	14,8	USPEŠNO (PASS)	NPM1 mutacija DETEKTOVANA [1,05%] (NPM1 Mutation DETECTED [1.05%])	Prijavljena vrednost: 1,05%
8	27,9	POZ.	14,0	USPEŠNO (PASS)	NPM1 mutacija DETEKTOVANA [Ispod LoD; <0,030%] (NPM1 Mutation DETECTED [Below LoD; <0,030%])	NA
9	0	NEG.	14,6	USPEŠNO (PASS)	NEGATIVNO [Dovoljno ABL transkripta] (NEGATIVE [Sufficient ABL transcript])	NA
10	0	NEMA REZULTATA (NO RESULT)	0	NEMA REZULTATA (NO RESULT)	GREŠKA (ERROR)	Na primer, Greška 5017 [ABL] provera probe neuspešna ([ABL] probe check failed)

^a Pogledajte karticu Rezultati analita (Analyte Results) na softveru GeneXpert Dx sistema za detalje.

16.1 NPM1 mutacija DETEKTOVANA [###%] (NPM1 Mutation DETECTED [###%])

NPM1 mutacija je detektovana pri nivou ###%.

Za rezultat „NPM1 mutacija DETEKTOVANA [###] (NPM1 Mutation DETECTED [###])”, NPM1 mutacija je detektabilna uz NPM1 mutacija Ct većim od ili jednako „6” i manjim od ili jednako „32” i ABL Ct većim od ili jednako „6” i manjim od ili jednako „20”. Softver GeneXpert izračunava % pomoću sledeće jednačine, gde je Delta Ct (ΔCt) vrednost dobijena iz ABL Ct minus NPM1 mutacija Ct:

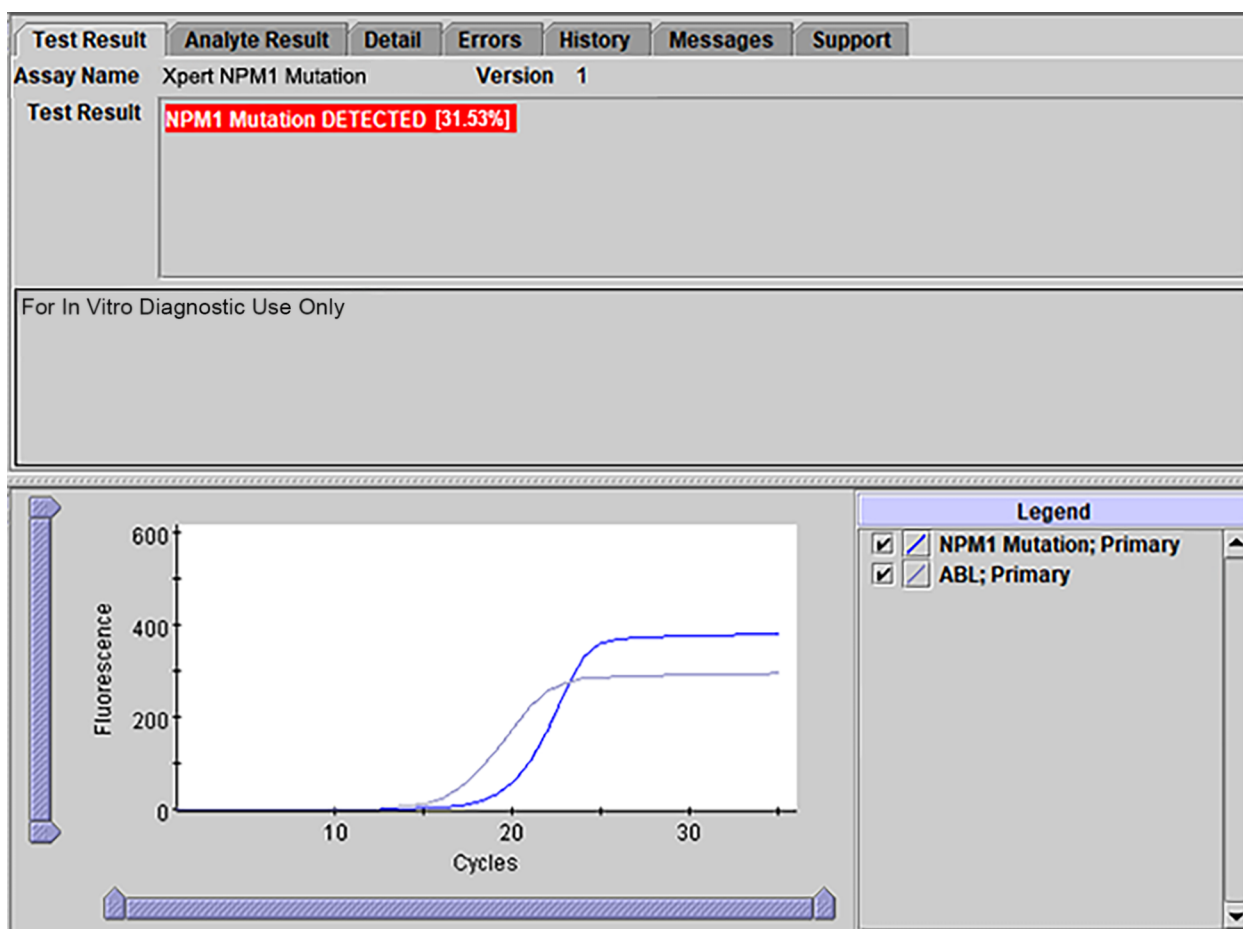
$$\% = E_{\Delta Ct}^{\Delta Ct} \times 100 \times \text{faktor skaliranja}$$

Faktor skaliranja (SF) je parametar specifičan za seriju koji je ugrađen unutar bar-koda patrone za analizu. Vrednost ovog faktora i efikasnost analize specifična za seriju ($E_{\Delta Ct}$) utvrđena je testiranjem kontrole kvaliteta za svaku seriju analize pomoću primarnih standarda kalibrisanih za kopiju brojeva sintetičke NPM1 mutacije i kalibratora ABL1 *in vitro* transkribovane RNK (IVT-RNK) za kvantifikaciju NPM1 mutiranog transkripta. $E_{\Delta Ct}$ je podešena na 1,95 i SF vrednost je podešena na 1,79 za upotrebu u ovde prikazanom primeru.

Напомена

Primer: Specifično za seriju $E_{\Delta Ct} = 1,95$; $SF = 1,79$
 ABL Ct analiza = 14,5; NPM1 mutacija Ct = 17,1; $\Delta Ct = -2,6$
 $\% = 1,95^{(-2,6)} \times 100 \times 1,79 = 31,53\%$

Rezultat: NPM1 mutacija DETEKTOVANA [31,53%] (NPM1 Mutation DETECTED [31.53%]).
 Pogledajte Slika 2.



Slika 2. GeneXpert Dx Prozor Prikaz rezultata: NPM1 mutacija DETEKTOVANA [31,53%] (NPM1 Mutation DETECTED [31.53%])

16.2 NPM1 mutacija DETEKTOVANA [iznad gornje LoQ] (NPM1 Mutation DETECTED [Above upper LoQ])

NPM1 mutacija je detektovana pri nivou > 500%.

Za rezultat „**NPM1 mutacija DETEKTOVANA [iznad gornje LoQ] (NPM1 Mutation DETECTED [Above upper LoQ])**”, NPM1 mutacija je detektabilna uz NPM1 mutacija Ct većim od ili jednako „6” i manjim od ili jednako „32” i ABL Ct većim od ili jednako „6” i manjim od ili jednako „20”. Softver GeneXpert izračunava % pomoću sledeće jednačine, gde je Delta Ct (ΔCt) vrednost dobijena iz ABL Ct minus NPM1 mutacija Ct:

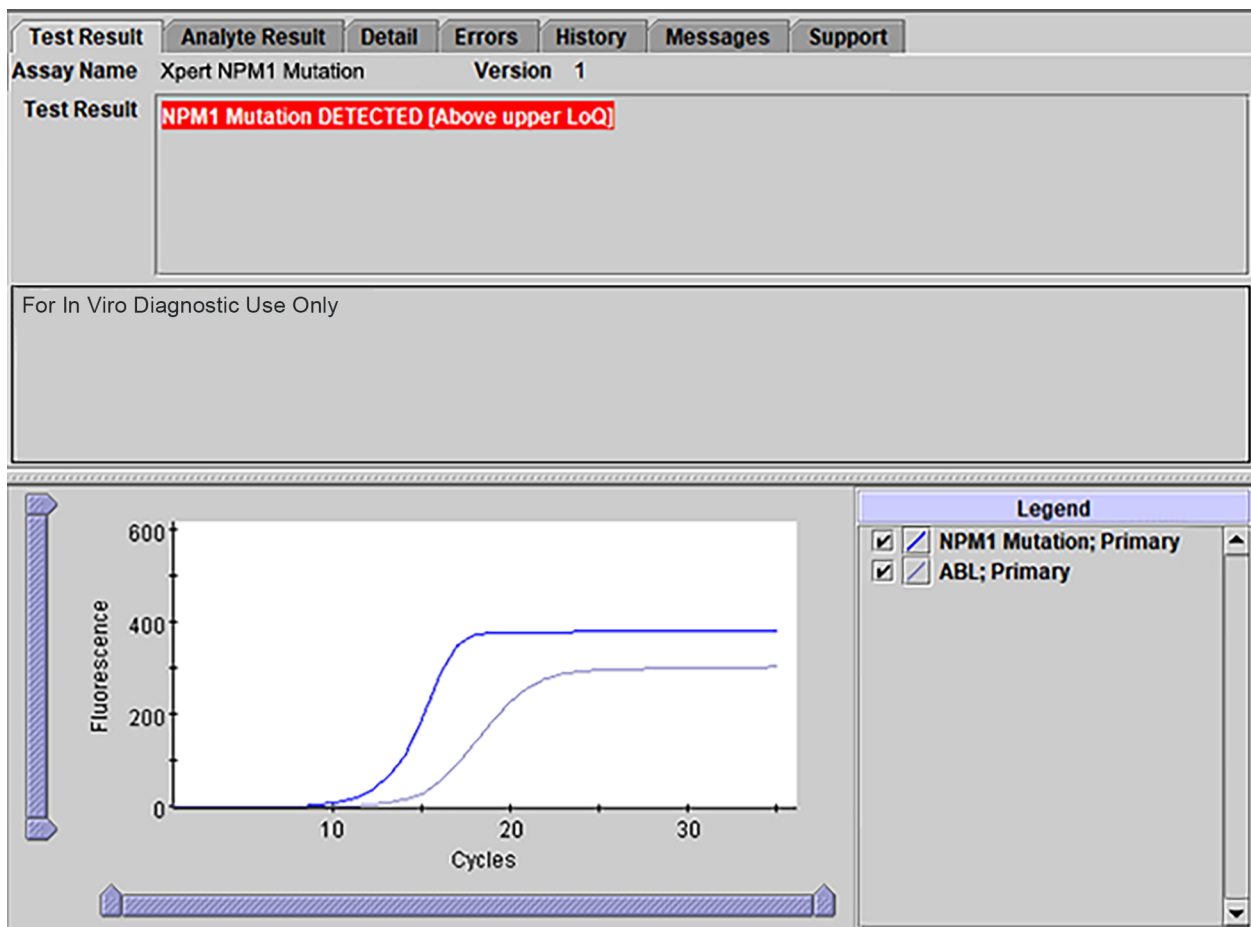
$$\% = E_{\Delta Ct}^{(\Delta Ct)} \times 100 \times \text{faktor skaliranja (SF)}$$

Напомена

Faktor skaliranja (SF) je parametar specifičan za seriju koji je ugrađen unutar bar-koda patrone za analizu. Vrednost ovog faktora i efikasnost analize specifična za seriju ($E_{\Delta Ct}$) utvrđena je testiranjem kontrole kvaliteta za svaku seriju analize pomoću primarnih standarda kalibrisanih za kopiju brojeva sintetičke NPM1 mutacije i kalibratora ABL1 *in vitro* transkribovane RNK (IVT-RNK) za kvantifikaciju NPM1 mutiranog transkripta. $E_{\Delta Ct}$ je podešena na 1,95 i SF vrednost je podešena na 1,79 za upotrebu u ovde prikazanom primeru.

Primer: Specifično za seriju $E_{\Delta Ct} = 1,95$; $SF = 1,79$
 ABL Ct analiza = 13,4; NPM1 mutacija Ct = 10,2; $\Delta Ct = 3,2$
 $\% = 1,95^{(3,2)} \times 100 \times 1,79 = 1516,92\%$ je veće od definisane gornje vrednosti LoQ pri 500%

Rezultat: **NPM1 mutacija DETEKTOVANA [iznad gornje LoQ] (NPM1 Mutation DETECTED [Above upper LoQ])**. Pogledajte Slika 3.



Slika 3. GeneXpert Dx Prozor Prikaz rezultata: NPM1 mutacija DETEKTOVANA [iznad gornje LoQ] (NPM1 Mutation DETECTED [Above upper LoQ])

16.3 NPM1 mutacija DETEKTOVANA [Ispod LoD; <0,030%] (NPM1 Mutation DETECTED [Below LoD; <0,030%])

NPM1 mutacija je detektovana pri nivou < 0,030%.

Za rezultat „NPM1 mutacija DETEKTOVANA [Ispod LoQ; <0,030%] (NPM1 Mutation DETECTED [Below LoD; <0.030%])”, NPM1 mutacija je detektabilna uz NPM1 mutacija Ct većim od ili jednako „6” i manjim od ili jednako „32” i ABL Ct većim od ili jednako „6” i manjim od ili jednako „20”. Softver GeneXpert izračunava % pomoću sledeće jednačine, gde je Delta Ct (ΔCt) vrednost dobijena iz ABL Ct minus NPM1 mutacija Ct:

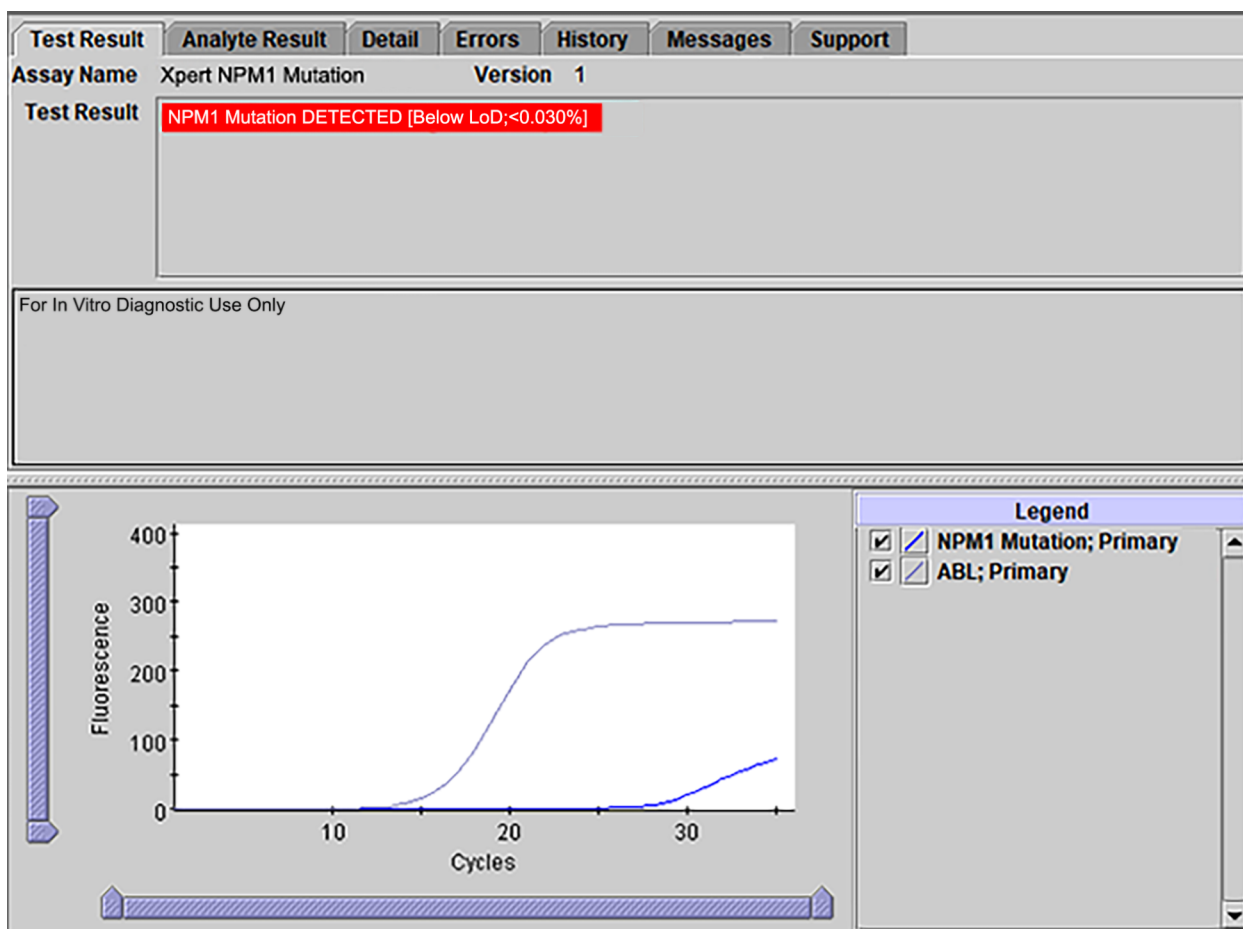
$$\% = E_{\Delta Ct}^{(\Delta Ct)} \times 100 \times \text{faktor skaliranja (SF)}$$

Faktor skaliranja (SF) je parametar specifičan za seriju koji je ugrađen unutar bar-koda patrone za analizu. Vrednost ovog faktora i efikasnost analize specifična za seriju ($E_{\Delta Ct}$) utvrđena je testiranjem kontrole kvaliteta za svaku seriju analize pomoću primarnih standarda kalibrisanih za kopiju brojeva sintetičke NPM1 mutacije i kalibratora ABL1 *in vitro* transkribovane RNK (IVT-RNK) za kvantifikaciju NPM1 mutiranog transkripta. $E_{\Delta Ct}$ je podešena na 1,95 i SF vrednost je podešena na 1,79 za upotrebu u ovde prikazanom primeru.

Напомена

Primer: Specifično za seriju $E_{\Delta Ct} = 1,95$; $SF = 1,79$
 ABL Ct analiza = 14,3; NPM1 mutacija Ct = 28,8; $\Delta Ct = -14,5$
 $\% = 1,95^{(-14,5)} \times 100 \times 1,79 = 0,011\%$ je manje od definisane LoD analize pri 0,030%

Rezultat: **NPM1 mutacija DETEKTOVANA [Ispod LoD; <0,030%] (NPM1 Mutation DETECTED [Below LoD; <0,030%]).** Pogledajte Slika 4.



Slika 4. GeneXpert prozor Prikaz rezultata (View results): NPM1 mutacija DETEKTOVANA [Ispod LoD; <0,030%] (NPM1 Mutation DETECTED [Below LoD; <0,030%])

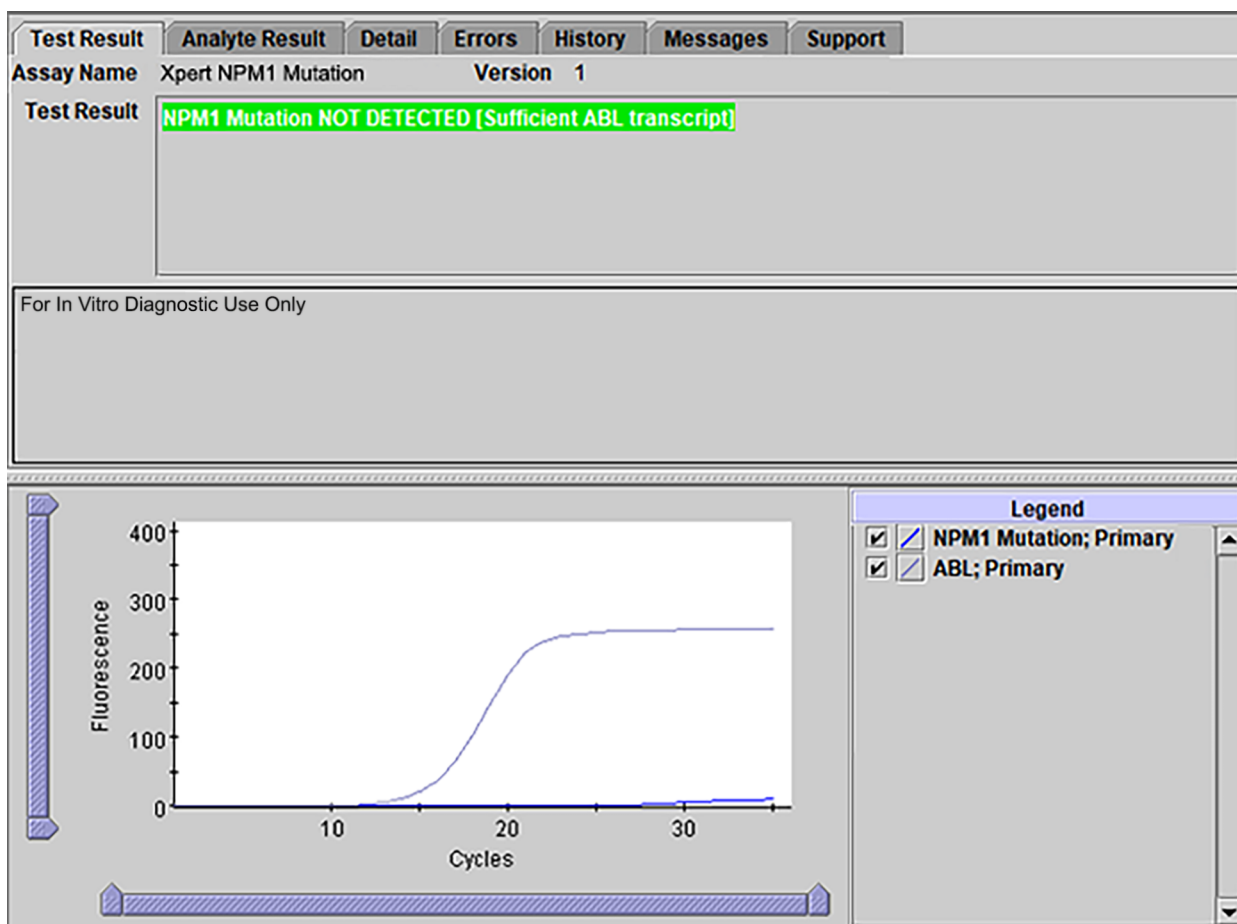
16.4 NPM1 mutacija NIJE DETEKTOVANA [Dovoljno ABL transkripta] (NPM1 Mutation NOT DETECTED [Sufficient ABL transcript])

NPM1 mutacija nije detektovana sa NPM1 mutacija Ct jednako „0” ili većim od „32” i ABL Ct većim od „6” i manjim od ili jednako „20”.

Softver GeneXpert zahteva da ABL Ct bude veći od ili jednako „6” i manji od ili jednako „20” za test Xpert NPM1 Mutation, kako bi se osiguralo da ima „Dovoljno ABL transkripta (Sufficient ABL transcript)”. Pogledajte Odeljak 15, Tumačenje rezultata, Tabela 1.

Primer: NPM1 mutacija Ct analiza = 0; ABL Ct = 14,0 je između „6” i „20”.

Rezultat: NPM1 mutacija NIJE DETEKTOVANA [Dovoljno ABL transkripta] (NPM1 Mutation NOT DETECTED [Sufficient ABL transcript]). Pogledajte Slika 5.



Slika 5. GeneXpert prozor Prikaz rezultata (View results): NPM1 mutacija NIJE DETEKTOVANA [Dovoljno ABL transkripta] (NPM1 Mutation NOT DETECTED [Sufficient ABL transcript])

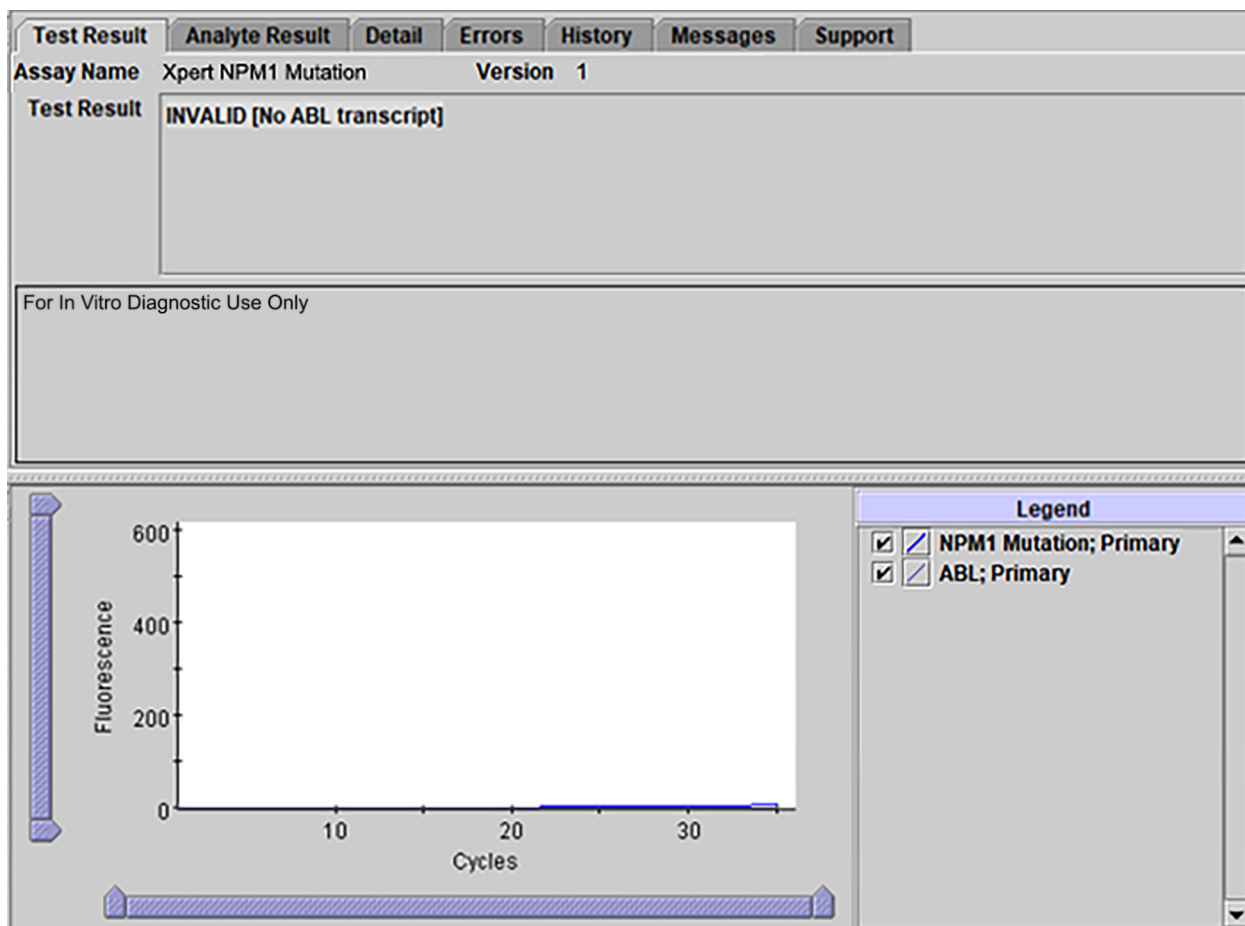
16.5 NEVAŽEĆI [Nema ABL transkripta] (INVALID [No ABL transcript])

NPM1 mutacija je detektovana ili nije detektovana uz ABL Ct jednako „0”.

Softver GeneXpert zahteva da ABL Ct bude veći od ili jednako „6” i manji od ili jednako „20” za test Xpert NPM1 Mutation, kako bi se osiguralo da ima „Dovoljno ABL transkripta (Sufficient ABL transcript)”. Pogledajte Odeljak 18, Vodič za rešavanje problema.

Primer: NPM1 mutacija Ct analiza = 0; ABL Ct = 0.

Rezultat: **NEVAŽEĆI [Nema ABL transkripta] (INVALID [No ABL transcript])**. Pogledajte Slika 6.



Slika 6. GeneXpert prozor Prikaz rezultata (View results):
NEVAŽEĆI [Nema ABL transkripta] (INVALID [No ABL transcript])

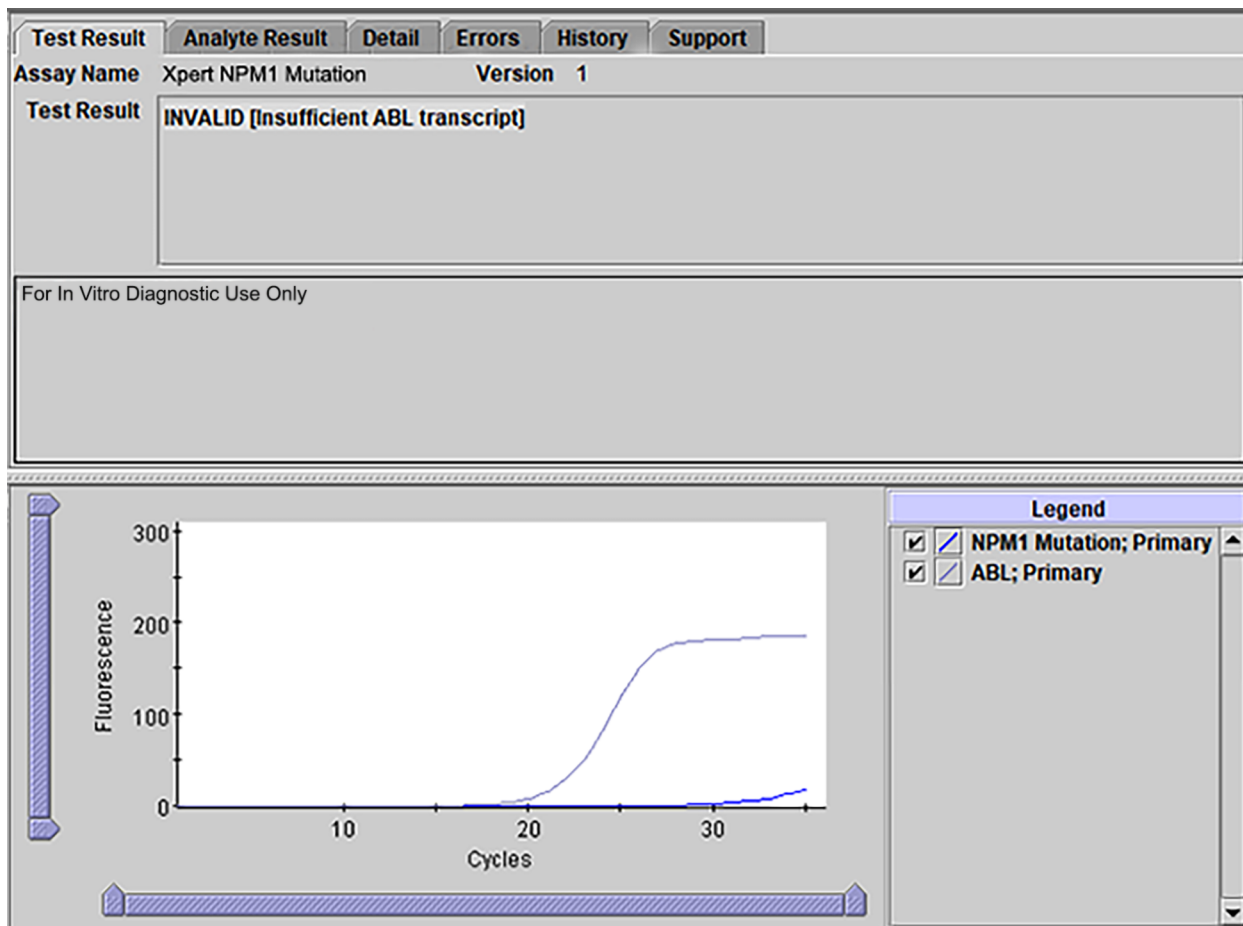
16.6 NEVAŽEĆI [Nedovoljno ABL transkripta] (INVALID [Insufficient ABL transcript])

NPM1 mutacija je detektovana ili nije detektovana uz ABL Ct veći od „20”.

Softver GeneXpert zahteva da ABL Ct bude veći od ili jednako „6” i manji od ili jednako „20” za test Xpert NPM1 Mutation, kako bi se osiguralo da ima „Dovoljno ABL transkripta (Sufficient ABL transcript)”. Pogledajte Odeljak 18, Vodič za rešavanje problema.

Primer: NPM1 mutacija Ct analize = 33,3: ABL Ct = 20,2 je veći od „20”.

Rezultat: **NEVAŽEĆI [Nedovoljno ABL transkripta] (INVALID [Insufficient ABL transcript])**.
Pogledajte Slika 7.



Slika 7. GeneXpert prozor Prikaz rezultata (View results): NEVAŽEĆI [Nedovoljno ABL transkripta] (INVALID [Insufficient ABL transcript])

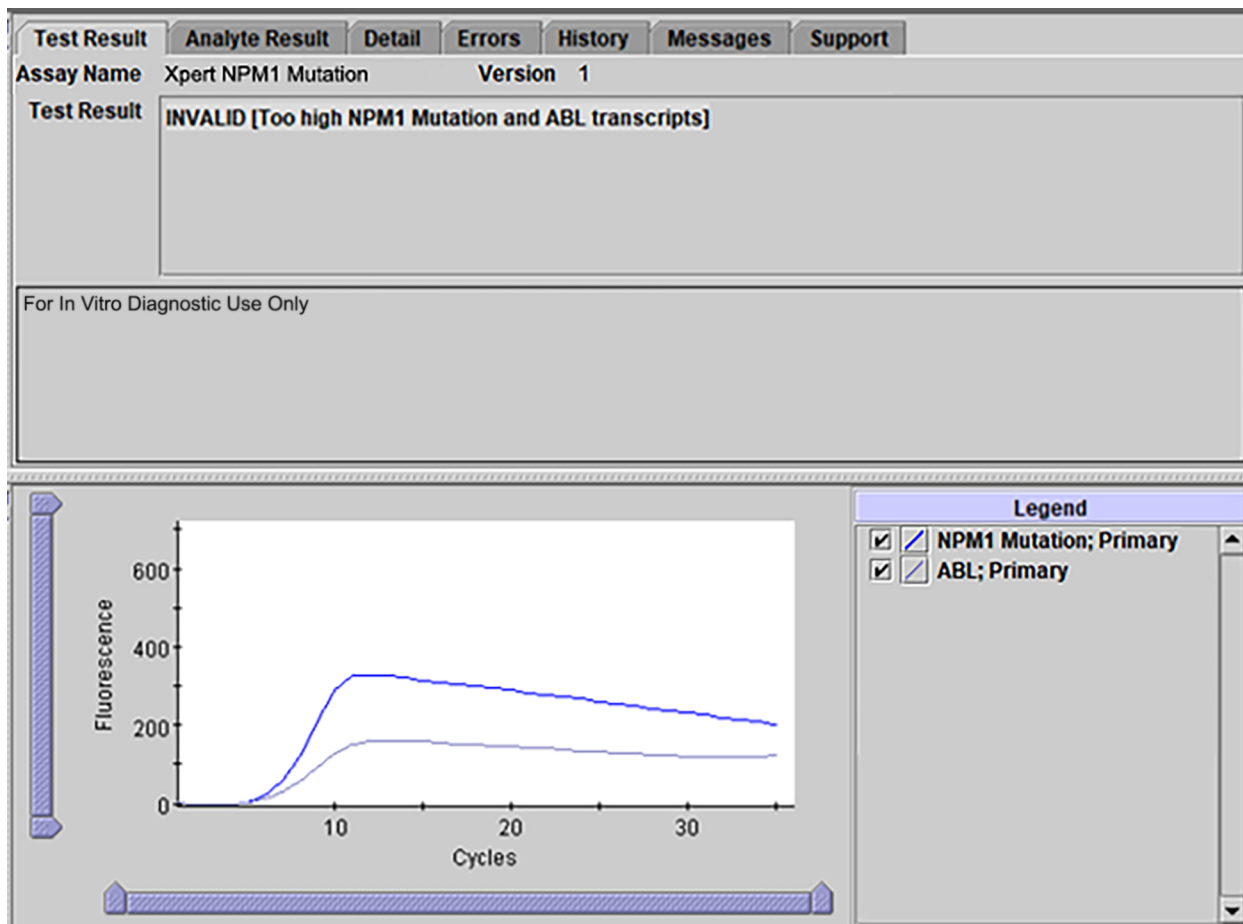
16.7 NEVAŽEĆI [previše NPM1 mutiranih i ABL transkripta] (INVALID [Too high NPM1 Mutation and ABL transcript])

NPM1 mutacija je detektovana i kod NPM1 mutacija i ABL Cts većim od „0” i manjim od „6”.

Softver GeneXpert zahteva da ABL Ct bude veći od ili jednako „6” i manji od ili jednako „20” za test Xpert NPM1 Mutation, kako bi se osiguralo da ima „Dovoljno ABL transkripta (Sufficient ABL transcript)”. Pogledajte Odeljak 18, Vodič za rešavanje problema.

Primer: NPM1 mutacija Ct analiza = 5,4 je veće od „0” i manje od „6”, ABL Ct = 5,9 je manje od „6”.

Rezultat: **NEVAŽEĆI [previše NPM1 mutiranih i ABL transkripta] (INVALID [Too high NPM1 Mutation and ABL transcript])**. Pogledajte Slika 8.



Slika 8. GeneXpert Dx Prozor Prikaz rezultata: NEVAŽEĆI [previše NPM1 mutiranih i ABL transkripta] (INVALID [Too high NPM1 Mutation and ABL transcript])

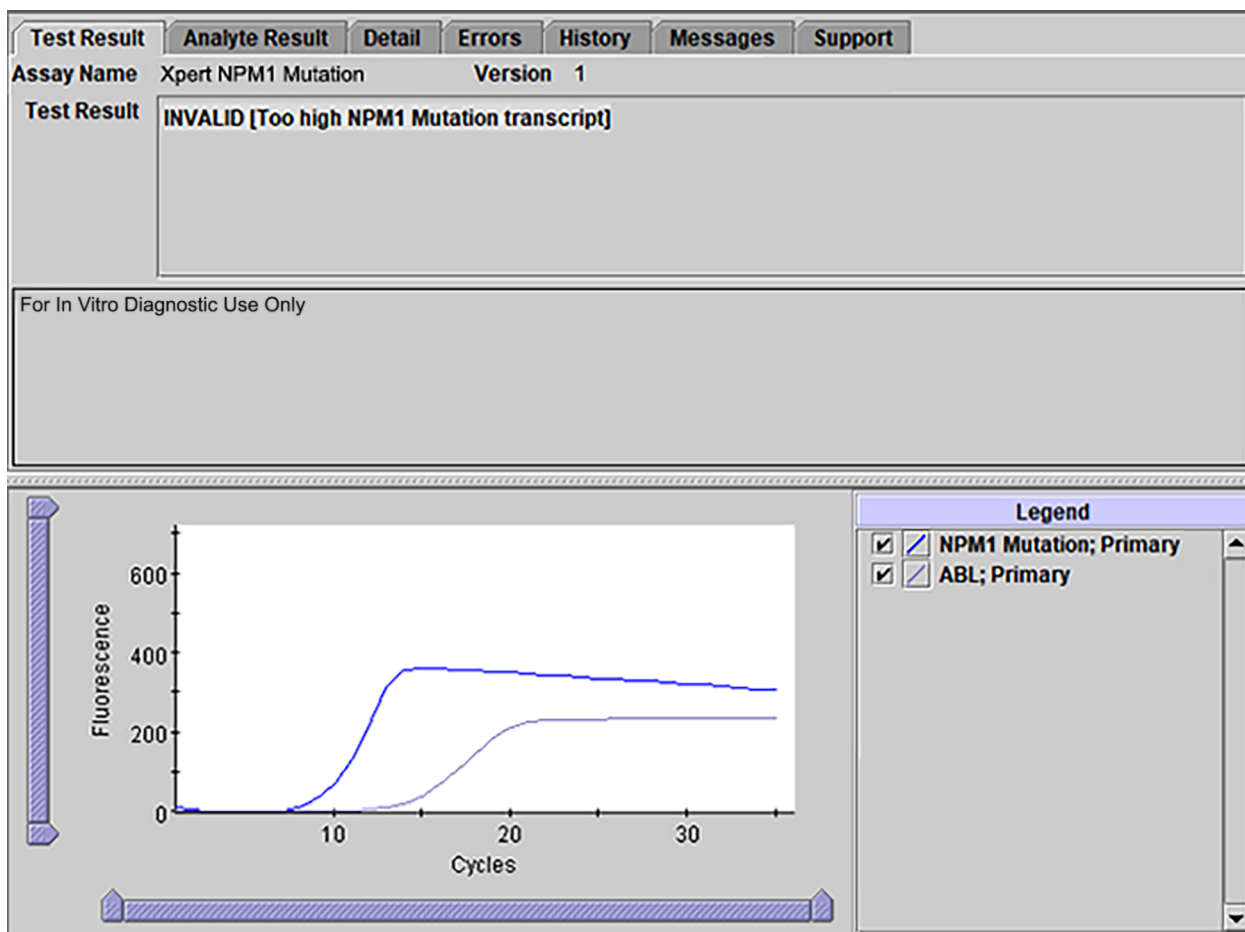
16.8 NEVAŽEĆI [previše NPM1 mutiranih transkripta] (INVALID [Too high NPM1 Mutation transcript])

NPM1 mutacija je detektovana sa NPM1 mutacija Ct većim od „0” i manjim od „6” i ABL Ct većim od „6” i manjim od ili jednako „20”.

Softver GeneXpert zahteva da ABL Ct bude veći od ili jednako „6” i manji od ili jednako „20” za test Xpert NPM1 Mutation, kako bi se osiguralo da ima „Dovoljno ABL transkripta (Sufficient ABL transcript)”. Pogledajte Odeljak 18, Vodič za rešavanje problema.

Primer: NPM1 mutacija Ct analiza = 5,8 je veće od „0” i manje od „6”; ABL Ct = 13 i između je „6” i „20”.

Rezultat: **NEVAŽEĆI [previše NPM1 mutiranih transkripta] (INVALID [Too high NPM1 Mutation transcript])**. Pogledajte Slika 9.



Slika 9. GeneXpert prozor Prikaz rezultata (View results): NEVAŽEĆI [previše NPM1 mutiranih transkripta] (INVALID [Too high NPM1 Mutation transcript])

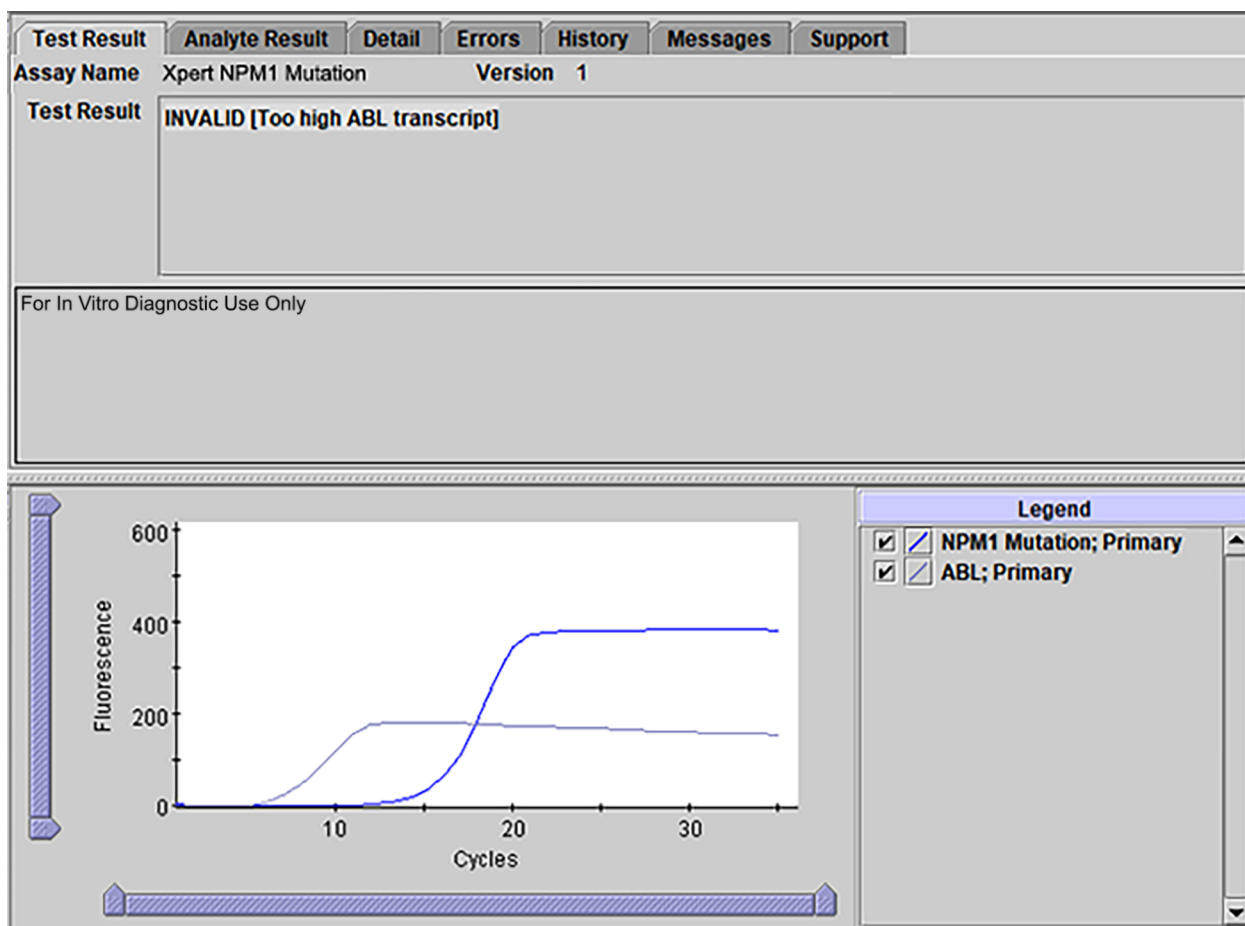
16.9 NEVAŽEĆI [previše ABL mutiranih transkripta] (INVALID [Too high ABL Mutation transcript])

NPM1 mutacija je detektovana sa NPM1 mutacija Ct većim od „6” i manjim od ili jednako „32” i ABL Ct nejednakim „0” i manjim od „6”.

Softver GeneXpert zahteva da ABL Ct bude veći od ili jednako „6” i manji od ili jednako „20” za test Xpert NPM1 Mutation, kako bi se osiguralo da ima „Dovoljno ABL transkripta (Sufficient ABL transcript)”. Pogledajte Odeljak 18, Vodič za rešavanje problema.

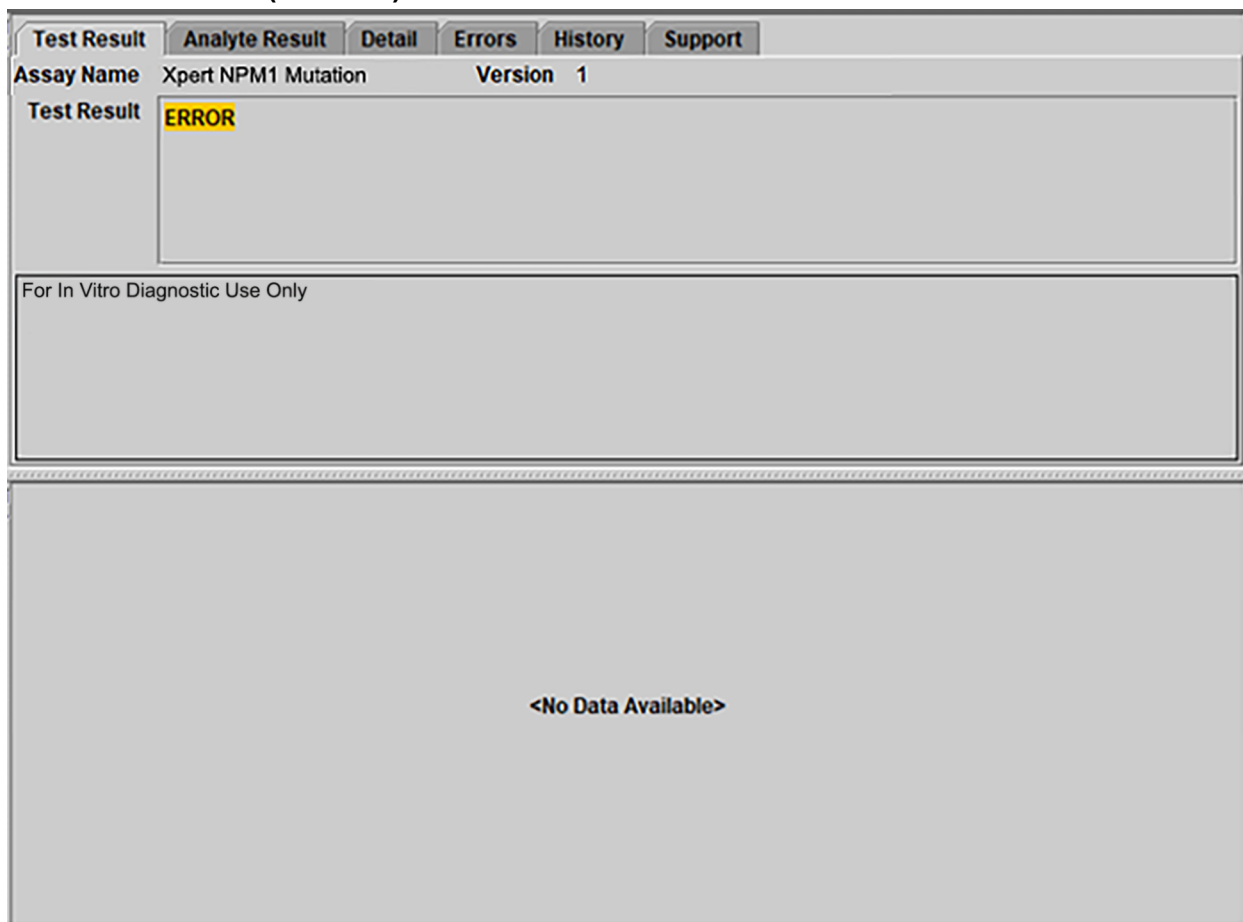
Primer: NPM1 mutacija Ct analize = 13,2: ABL Ct = 5,8 je manji od „6”.

Rezultat: **NEVAŽEĆI [Previše ABL transkripta] (INVALID [Too high ABL transcript])**. Pogledajte Slika 10.



Slika 10. GeneXpert prozor Prikaz rezultata (View results): NEVAŽEĆI [Previše ABL transkripta] (INVALID [Too high ABL transcript])

16.10 GREŠKA (ERROR)



Slika 11. GeneXpert prozor Prikaz rezultata (View results): GREŠKA (ERROR)

17 Ograničenja analize

- Analiza nije namenjena da se koristi sa eksternim kalibratorima.
- Modifikacije ovih postupaka mogu izmeniti performanse analize.
- Ovaj proizvod je dizajniran samo za upotrebu sa krvlju prikupljenom u EDTA epruvete.
- Nemojte koristiti heparin kao antikoagulans, jer može inhibirati PCR reakciju.
- Tipovi uzoraka sa natrijum citratom, slojem leukocita i trombocita i koštanom srži, nisu potvrđeni.
- Greške u rezultatima analize mogu nastati tokom nepravilnog prikupljanja, obrade ili skladištenja uzorka, ili prilikom zamene uzorka. Da bi se izbegli pogrešni rezultati, neophodno je pažljivo poštovanje Uputstava za upotrebu.
- Mutacije ili polimorfizmi u regionima vezivanja prajmera ili probe mogu uticati na detekciju novih ili nepoznatih varijanti, što može dovesti do lažno negativnog rezultata.
- Izuzetno povećan broj leukocita može dovesti do nakupljanja pritiska u patroni i do obustavljanja ciklusa, ili netačnih rezultata.
- Neki uzorci sa vrlo niskim nivoima ABL transkripta, ili sa leukocitima nižim od 150.000 ćelija/ml, mogu biti prijavljeni kao **NEVAŽEĆI (INVALID)** (tip 1). Neodređeni rezultat ne isključuje prisustvo vrlo niskih nivoa leukemijskih ćelija u uzorku.

18 Vodič za rešavanje problema

Tabela 3. Vodič za rešavanje problema

Rezultati analize	Mogući uzroci	Predlozi
NEVAŽEĆI (INVALID)	Tip 1: Neuspeh endogene kontrole ABL: <ul style="list-style-type: none"> Loš kvalitet uzorka RT-PCR inhibicija ABL Ct > 20, i/ili krajnja tačka < 100 	<ul style="list-style-type: none"> Proverite kvalitet uzorka (npr. produženo skladištenje uzorka uključujući vreme i temperaturu). Ponovite analizu pomoću originalnog uzorka (ako je dostupan) ili iz preostalog lizata i pomoću nove patrone, sledeći postupak kako je opisano u Odeljak 19.1, Postupak ponovnog testiranja za GREŠKU (ERROR) ili NEVAŽEĆI (INVALID) (tip 1).
	Tip 2: Nivo NPM1 mutiranog transkripta ne može biti određen zbog uzorka koji sadrži previše NPM1 mutiranog i/ili ABL transkripta (Ct < 6)	Ponovite analizu pomoću originalnog uzorka (ako je dostupan) ili iz preostalog lizata i pomoću nove patrone, sledeći postupak kako je opisano u Odeljak 19.2, Postupak ponovnog testiranja za GREŠKU (šifra 2008) (ERROR (Code 2008)) ili NEVAŽEĆI (INVALID) (tip 2).
GREŠKA (ERROR) (šifra 2008)	Prekoračenje ograničenja za pritisak (poruka o grešci 2008)	<ul style="list-style-type: none"> Proverite kvalitet uzorka Proverite na enormno povećan broj leukocita (WBC) Ponovite analizu pomoću originalnog uzorka (ako je dostupan) ili iz preostalog lizata i pomoću nove patrone, sledeći postupak kako je opisano u Odeljak 19.2, Postupak ponovnog testiranja za GREŠKU (šifra 2008) (ERROR (Code 2008)) ili NEVAŽEĆI (INVALID) (tip 2).
GREŠKA (ERROR) (šifra 5006, 5007, 5008 i 5009*) *Ovo nije konačna lista šifara za GREŠKU (ERROR).	Neuspeh provere probe	Ponovite analizu pomoću originalnog uzorka (ako je dostupan) ili iz preostalog lizata i pomoću nove patrone, sledeći postupak kako je opisano u Odeljak 19.1, Postupak ponovnog testiranja za GREŠKU (ERROR) ili NEVAŽEĆI (INVALID) (tip 1).
NEMA REZULTATA (NO RESULT)	Neuspeh u prikupljanju podataka. Na primer, operater je zaustavio analizu koja je bila u toku ili je došlo do nestanka struje.	Ponovite analizu pomoću originalnog uzorka (ako je dostupan) ili iz preostalog lizata i pomoću nove patrone, sledeći postupak kako je opisano u Odeljak 19.1, Postupak ponovnog testiranja za GREŠKU (ERROR) ili NEVAŽEĆI (INVALID) (tip 1).

19 Ponovljeni testovi

19.1 Postupak ponovnog testiranja za rezultat GREŠKA (ERROR) ili NEVAŽEĆI (INVALID) (tip 1)

Ponovo testirajte uzorke sa rezultatima **GREŠKA (ERROR)** ili **NEVAŽEĆI (INVALID)** zbog ABL praga ciklusa (Ct) koji prekoračuje maksimalni važeći Ct (Ct >20), ili ako je krajnja tačka ispod podešenog praga (<100). Takođe pogledajte Odeljak 18, Vodič za rešavanje problema.

1. Ako je dostupno dovoljno zapremine uzorka krvi, ponovite test iz prvobitne epruvete za prikupljanje uzorka krvi sledeći postupak u Odeljak 12.2.

-ILI-

Ako je zapremina uzorka krvi nedovoljna, ponovno testiranje se može izvesti pomoću preostalog lizata iz Odeljak 12.2.1, korak 12.

- a. Ako je preostali lizat iz Odeljak 12.2.1 korak 12, čuvan u zamrznutom stanju, odmrznite ga na sobnoj temperaturi pre upotrebe.
 - b. Pobrinite se za to da se lizat dobro pomeša, mešanjem uzorka pomoću vorteks mešalice pri maksimalnom podešavanju, neprestano u toku 10 sekundi i ostavite ga sa strane na 3 minuta, kako bi se staložili mehurići.
2. Prenesite 1 ml pripremljenog lizata u novu konusnu epruvetu od 50 ml.
 3. Sledite korake 13-17 u Odeljak 12.2.1 kako biste napravili konačni lizat.
 4. Otvorite patronu tako što ćete podići poklopac patrone i prebacite celokupan sadržaj jedne (1) ampule reagensa za pranje u komoru za reagens za pranje (sa malim otvorom). Pogledajte Slika 1.
 5. Pipetirajte celokupan sadržaj pripremljenog uzorka u komoru za uzorke (veliki otvor). Pogledajte Slika 1.
 6. Zatvorite poklopac patrone. Započnite analizu (pogledajte Odeljak 12.4, Započinjanje analize).

19.2 Postupak ponovnog testiranja za rezultat GREŠKA (šifra 2008) (ERROR (Code 2008)) ili NEVAŽEĆI (INVALID) (tip 2)

Ponovo testirajte uzorke pomoću nivoa NPM1 mutiranog i/ili ABL transkripta ispod važećeg minimalnog Ct (Ct > 0 i Ct < 6) i/ili kad se prekorači ograničenje pritiska. Takođe pogledajte Odeljak 18, Vodič za rešavanje problema.

1. Na dno nove konusne epruvete od 50 ml dodajte 100 µl PK (proteinaza K).
2. Pobrinite se da je uzorak krvi ili preostali lizat iz Odeljak 12.2, korak 12 dobro pomešan, tako što ćete okrenuti epruvetu gore-dole 8 puta odmah pre pipetiranja.
3. U epruvetu koja već sadrži proteinazu K, dodajte 250 µl uzorka krvi i 3,75 ml PBS (pH 7,4, obezbeđuje korisnik), ako je dostupno, ili 60 µl preostalog lizata iz Odeljak 12.2.1, korak 12.
 - a. Ako je preostali lizat iz Odeljak 12.2.1 korak 12, čuvan u zamrznutom stanju, odmrznite ga na sobnoj temperaturi pre upotrebe.
 - b. Pobrinite se za to da se lizat dobro pomeša, mešanjem uzorka pomoću vorteks mešalice pri maksimalnom podešavanju, neprestano u toku 10 sekundi i ostavite ga sa strane na 3 minuta, kako bi se staložili mehurići.
4. Pomešajte uzorak u vorteks mešalici pri maksimalnom podešavanju, neprekidno u toku 3 sekunde.
5. Inkubirajte uzorak na sobnoj temperaturi 1 minut.
6. Za ponovno testiranje uzorka krvi sa PBS, pratite korake 6-17 u Odeljak 12.2.1, kako biste napravili konačni lizat. Za ponovno testiranje uzorka preostalog lizata, pratite korake a-g u nastavku kako biste napravili konačni lizat.
 - a. U epruvetu za ponovno testiranje sa preostalim lizatom dodajte 2,5 ml LY.
 - b. Pomešajte uzorak u vorteks mešalici pri maksimalnom podešavanju, neprekidno u toku 10 sekundi.
 - c. Inkubirajte uzorak na sobnoj temperaturi 5 minuta.
 - d. Pomešajte uzorak u vorteks mešalici pri maksimalnom podešavanju, neprekidno u toku 10 sekundi.
 - e. Inkubirajte uzorak na sobnoj temperaturi 5 minuta.
 - f. U istu epruvetu dodajte 2 ml reagensa gradusa apsolutnog etanola (treba da obezbedi korisnik)
 - g. Pomešajte uzorak u vorteks mešalici pri maksimalnom podešavanju, neprekidno u toku 10 sekundi. Odložite sa strane.
7. Otvorite patronu tako što ćete podići poklopac patrone i prebacite celokupan sadržaj jedne (1) ampule reagensa za pranje u komoru za reagens za pranje (sa malim otvorom). Pogledajte Slika 1.
8. Pipetirajte celokupan sadržaj pripremljenog uzorka u komoru za uzorke (veliki otvor). Pogledajte Slika 1.

9. Zatvorite poklopac patrone. Započnite analizu (pogledajte Odeljak 12.4, Započinjanje analize).

20 Očekivane vrednosti

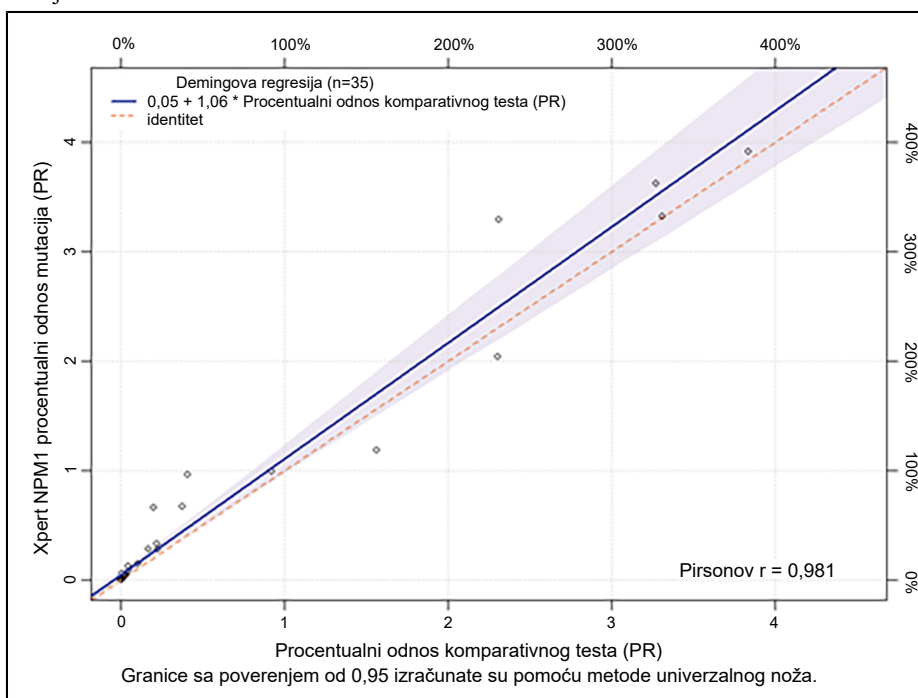
Xpert NPM1 Mutation opseg pokriva ključne kliničke tačke u odlučivanju za praćenje AML. Očekivane vrednosti izražene su u procentualnom odnosu NPM1 mutacija mRNA u odnosu na ABL mRNA i opsegu između 0,030% i 500%. Merenja ispod ovog opsega prijavljivanja su kao nedetektabilna ili ispod granice detekcije (LoD). Merenja iznad ovog opsega prijavljivanja su kao iznad granice kvantifikacije (LoQ). Pogledajte Odeljak 15 za detalje.

21 Kliničke performanse

Sprovedena je multicentrična, opservaciona studija sa metodom komparacije u tri centra u Sjedinjenim Državama i jednom centru van Sjedinjenih Država. U studiju su bili uključeni uzorci od 40 pacijenata sa diskretnom AML sa NPM1 mutacijom u jednoj vremenskoj tački i širom dinamičkog opsega testa Xpert NPM1 Mutation. Prikupljeni su uzrast i pol za pacijente od kojih su dobijeni uzorci. Raspodela pola bila je 11 muškaraca (27,5%) i 29 žena (72,5%). Svi uzorci su poticali od pacijenata između 16 i 81 godinu starosti, sa medijanom od 59,7 godina.

Svih 40 uzoraka dalo je važeće rezultate testa. Trideset šest od 40 uzoraka dalo je rezultate u okviru kvantitativnih opsega za oba testa. Četiri uzorka je bilo isključeno iz Demingove regresije jer su uzorci bili negativni na Xpert NPM1 Mutation i/ili komparativni test. Još jedan dodatni uzorak je isključen jer je bio izuzetak. Ukupno 35 uzoraka bilo je uključeno u analizu Demingove regresije.

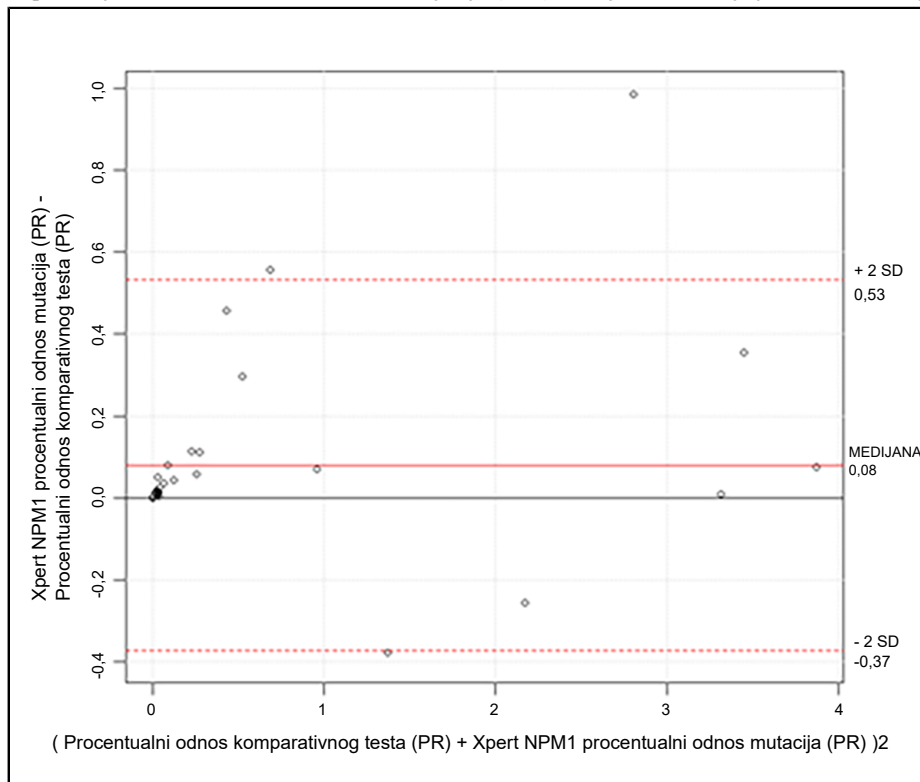
Performanse testa Xpert NPM1 Mutation naspram komparativne analize procenjene su pomoću Demingove regresije, kako bi se odredio nagib i presek. Slika 12 predstavlja rezultate analize Demingove regresije uključujući nagib, presek i liniju identiteta na 35 uzoraka. Granice poverenja od 95% izračunate su pomoću metode univerzalnog noža, a prikazan je Pirsonov koeficijent korelacije.



Slika 12. Demingova regresija za procentualni odnos

Nagib i presek za procentualni odnos iz analize Demingove regresije bili su 1,06 odnosno 0,05, a Pirsonova korelacija bila je 0,981 između merenja testa Xpert NPM1 Mutation i komparativnog testa.

Procenjena je Bland-Altman analiza za razliku u procentualnom odnosu za 35 uzoraka sa kvantitativnim rezultatima, koji su bili unutar linearnog opsega Xpert NPM1 Mutation i komparativnog testa. Slika 13 prikazuje Bland-Altman grafikon sa razlikom u procentualnom odnosu između dva testa naspram rezultata prosečnog procentualnog odnosa za svaki uzorak. Grafikon takođe prikazuje i više i niže dve standardne devijacije (2SD) srednje razlike, koja je uočena u studiji.



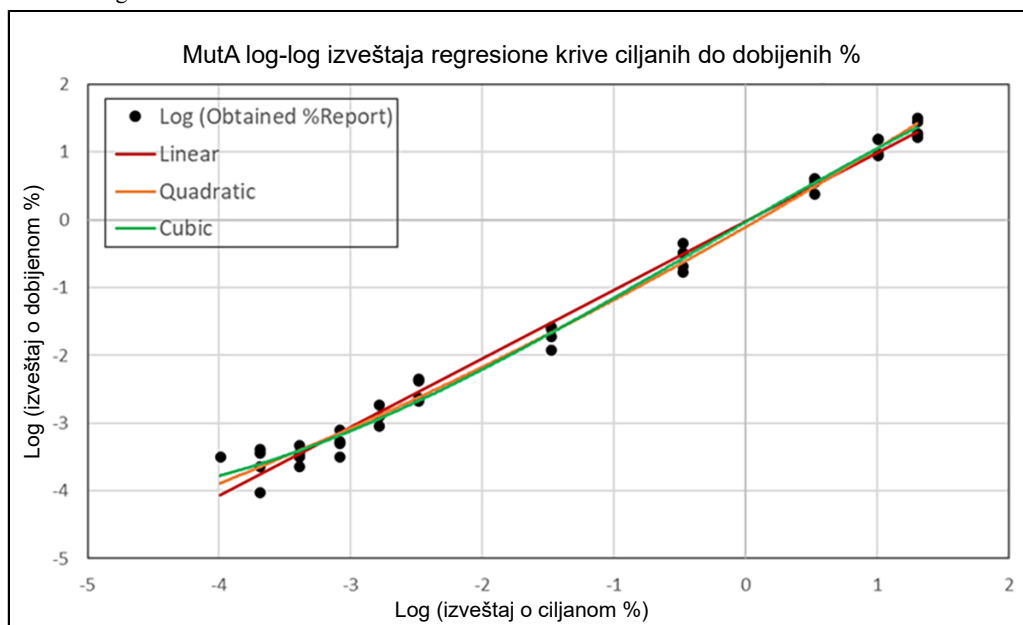
Slika 13. Bland-Altman grafikon za procentualni odnos testa Xpert NPM1 mutacija i komparativnog testa

Srednja razlika bila je 0,08 u procentualnom odnosu između rezultata Xpert NPM1 Mutation i komparativnog testa. Većina (91,4%, 32/35) rezultata bila je unutar 2SD srednje razlike.

22 Analitički podaci

22.1 Opseg linearnosti/dinamike

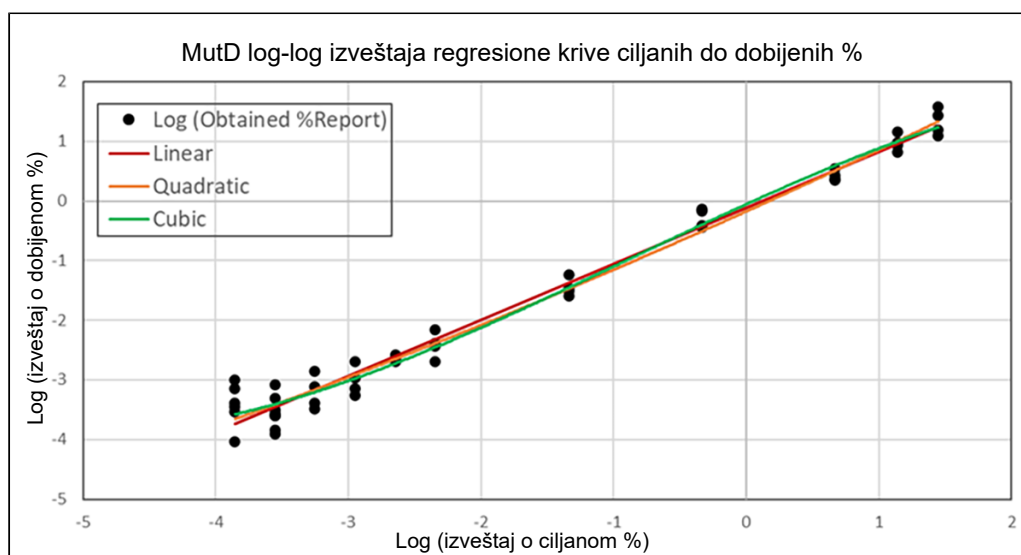
Linearnost je utvrđena za svaki od tri podtipa NPM1 mutacije, mutA, mutB i mutD, pomoću lizata ćelija koji sadrži visoke nivoe svakog podtipa transkripta. Takvi lizati su razblaženi u osnovnom lizatu pripremljenom iz NPM1 mutacija-negativnih donora za koje se pretpostavlja da su negativni, na ciljane opsege od ~0,01–2500% NPM1 mutacija/ABL. Svi nivoi su testirani na jednoj seriji reagenasa u kvadrilikatu. Testiranje i statističke analize su sprovedene u skladu sa CLSI EP06-A⁹. Regresione krive za svaki podtip prikazane su u Slika 14, Slika 15 i Slika 16. Linearni opseg za svaki podtip i njihovi koeficijenti linearnog modela sumirani su u Tabela 4.



Slika 14. Regresione krive za mutA



Slika 15. Regresione krive za mutB



Slika 16. Regresione krive za mutD

Tabela 4. Sažetak linearnih opsega i koeficijenti linearnog modela

Podtip	Linearni opseg	Presek	Nagib	R ²
mutA	0,010–2020%	-0,0223	1,0134	0,989
mutB	0,010–2673%	-0,0061	1,0174	0,978
mutD	0,014–2783%	-0,1163	0,9389	0,981

Generalno, test Xpert NPM1 Mutation demonstrirao je linearnost unutar 0,014–2020% NPM1 mutacija/ABL. Ograničeno pomoću LoQ i gornje granice softvera, prijavljeni dinamički opseg je 0,030–500%.

22.2 Analitička osetljivost (Granica detekcije, Granica kvantifikacije, Granica praznog)

Granica detekcije (LoD) je najniži nivo NPM1 mutacije/ABL pri čemu se 95% uzoraka konstantno prijavljuje kao „**NPM1 mutacija DETEKTOVANA [##.##%] (NPM1 Mutation DETECTED [##.##%])**“. LoD je utvrđena pojedinačno za mutA, mutB i mutD podtipove testiranjem serijskih razblaženja NPM1-mutacija-pozitivna ćelijskih lizata i kliničkih lizata koji sadrže svaki podtip mutacije. Odgovarajuće LoD procenjene su i potvrđene u skladu sa CLSI EP17-A2¹⁰. Rezultirajuće analize dale su LoD od 0,025% za mutA, 0,023% za mutB i 0,030% za mutD (Tabela 5). Najveća LoD za tri podtipa od 0,030% uzeta je kao sveukupna LoD za test Xpert NPM1 Mutation.

Granica kvantifikacije (LoQ) je najniži nivo NPM1 mutacije/ABL iznad kog se uzorci mogu kvantifikovati uz standardnu devijaciju $\leq 0,36$ log redukcije (LR) za LR medijane iznad 3,5. U skladu sa CLSI EP17-A2¹⁰, LoQ su procenjene i potvrđene pri 0,025% za mutA podtip, 0,023% za mutB podtip i 0,030% za mutD podtip (Tabela 5). Najveća LoQ za tri podtipa od 0,030% uzeta je kao sveukupna LoQ za test Xpert NPM1 mutacija.

Granica praznog (LoB) je najviši očekivani rezultat NPM1 mutacije/ABL u 95% praznih uzoraka od donora za koje se pretpostavljalo da su NPM1-mutacija-negativni. U skladu sa CLSI EP17-A2¹⁰, LoB za test Xpert NPM1 mutacija procenjena je i potvrđena pri 0,0085% (Tabela 5).

Tabela 5. Granica detekcije, Granica kvantifikacije i Granica praznog testa Xpert NPM1 Mutation [% NPM1 mutacije/ABL]

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

22.3 Analitička specifičnost

Analitička specifičnost testa Xpert NPM1 Mutation određena je pomoću uzoraka periferne krvi tretiranih sa EDTA, uzetih od dvadeset pet zdravih donora.

Rezultat Nema **DETEKTOVANE NPM1 mutacije (NPM1 Mutation DETECTED)** dobijen je iz svakog uzorka NPM1-mutacija-negativna za koji se pretpostavljalo da je negativan, a koji je procenjen u ovoj studiji. Stoga je test Xpert NPM1 Mutation specifičan za mutirane NPM1 mRNK transkripte (tipovi A, B i D na egzonu 12) povezan sa AML i ima analitičku specifičnost od 100% za uzorke periferne krvi sa EDTA.

22.4 Procena prenošenja kontaminacije

Sprovedena je studija kako bi se demonstriralo da jednokratne, samostalne GeneXpert patrone sprečavaju prenošenje kontaminacije iz patrona obrađenih u sekvencionalnim ciklusima na istom modulu instrumenta. NPM1-mutacija-negativan uzorak za koji se pretpostavljalo da je negativan, testiran je nakon NPM1-mutacija-pozitivnog uzorka koji je bio visoko pozitivan u istom GeneXpert modulu. Šema testiranja je ponovljena 10 puta na dva GeneXpert modula (22 negativna i 20 pozitivna, ukupno). Svi ciklusi pozitivnih uzoraka dali su očekivani rezultat „**NPM1 mutacija DETEKTOVANA [#.##%]**” (**NPM1 Mutation DETECTED [#.##%]**)” i svi ciklusi negativnih uzoraka dali su očekivani rezultat „**NPM1 mutacija NIJE DETEKTOVANA [#.##%]**” (**NPM1 Mutation NOT DETECTED [#.##%]**)”.

22.5 Potencijalno ometajuće supstance

Procenjeno je pet supstanci ovom studijom, koje mogu biti prisutne u EDTA uzorcima periferne krvi sa potencijalom da ometaju performanse testa. Testirana jedinjenja i nivoi (pogledajte Tabela 6) zasnovani su na smernici iz CLSI EP07-ED3¹¹. Ometajuće supstance su testirane u EDTA uzorcima periferne krvi dobijenim iz lizata kultivisanih NPM1-mutiranih-pozitivnih ćelija, koje su predstavljale tri nivoa: > 1%, 0,1–0,5% i negativan. Kontrole testa sastojale su se od istih uzoraka bez potencijalno ometajućih supstanci. Svaki nivo testiran je u odsustvu i prisustvu pet pojedinačnih ometajućih supstanci u 4 replikata po stanju. Za supstancu se smatralo da ne ometa ako je u njenom prisustvu, srednji procentualni odnos bio unutar 3-struke razlike u poređenju sa kontrolom.

Nisu uočeni klinički značajni inhibitorni efekti Xpert NPM1 Mutation testa ni sa jednom procenjenom ometajućom supstancom u ovoj studiji. Nisu uočene statistički značajne razlike (p-vrednost < 0,05) ni u kakvim testiranim stanjima, a prijavljeni procentualni odnosi između testa i kontrolnih stanja bili su unutar prihvatljivog 3-strukog opsega.

Tabela 6. Testirane potencijalno ometajuće supstance pomoću Xpert NPM1 Mutation

Ometajuće supstance	Testirana koncentracija
Nekonjugovani bilirubin	20 mg/dl
Ukupni holesterol	500 mg/dl
Ukupni trigliceridi (lipidi)	3000 mg/dl
Heparin	3500 U/l
EDTA (kratko uzimanje)	930 mg/dl

23 Reproducibilnost i preciznost

Dizajnirana je studija u skladu sa opštim principima predstavljenim u CLSI EP05-A3 standardu za multifaktorijalne studije. Sprovedena je u tri centra. Dizajn studije obuhvatao je članove panela uzorka koji su uključivali mutacije A, B i D u dve koncentracije. Testirano je sedam članova panela u duplikatu, dva ciklusa dnevno, ukupno 6 dana od strane dva operatera u tri različita centra (3 centra x 2 operatera x 3 serije x 2 dana x 2 ciklusa x 2 replikata = 144 rezultata testova/člana panela). Pripremljeni su paneli za reproducibilnost i preciznost od strane kompanije Cepheid i sastojali su se od sedam članova panela prikazanih u Tabela 7. Paneli su sadržali simulirani EDTA matriks periferne krvi (PB).

Tabela 7. Paneli reproducibilnosti i preciznosti

Član panela	Cilj	Nivo procentualnog odnosa (PR)
1	Negativno	NA
2	NPM1 mutacija A	Umereno pozitivno (~5%)
3	NPM1 mutacija A	Nisko pozitivno (~0,2%)
4	NPM1 mutacija B	Umereno pozitivno (~5%)
5	NPM1 mutacija B	Nisko pozitivno (~0,2%)
6	NPM1 mutacija D	Umereno pozitivno (~5%)
7	NPM1 mutacija D	Nisko pozitivno (~0,2%)

Broj uzoraka sa važećim rezultatima za svaki analizirani član panela od strane dva operatera širom tri centra prikazan je u Tabela 8.

Tabela 8. Reproducibilnost i preciznost: Broj uzoraka sa važećim rezultatima

Član panela	Centar 1			Centar 2			Centar 3			Ukupno uzoraka
	Op 1	Op 2	Centar	Op 1	Op 2	Centar	Op 1	Op 2	Centar	
1 Negativno	24/24 ^a	(24/24)	(48/48) ^a	(24/24) ^b	(24/24)	(48/48) ^b	(24/24)	(24/24)	(48/48)	(144/144)
2 LR1,3: mut A (~5% odnos)	(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% odnos)	(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% odnos)	(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% odnos)	(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% odnos)	(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% odnos)	(24/24)	(24/24)	(48/48)	(24/24) ^c	(24/24)	(48/48) ^c	(24/24)	(24/24)	(48/48)	(144/144)

^a Dva negativna uzorka su imala važeće ali detektovane rezultate (FP)

^b Jedan negativan uzorak je imao važeći ali detektovan rezultat (FP)

^c Jedan LR 2,7: mut D (~0,2% odnos) uzorak imao je važeći ali nedetektovan rezultat (FN)

Kvantitativni rezultati su analizirani ugnježenom analizom varijanse (ANOVA) uz nasumične efekte i koeficijent varijacije (CV). Rezultati iz ANOVA proračuna za standardnu devijaciju i varijansu za svaki pozitivan uzorak, dati su u Tabela 9. Varijansa i procenat ukupne varijanse kojoj doprinosi svaka komponenta (centar/instrument, operater, serija, dan, ciklus) naznačeni su kao SD i procentualni doprinos svake komponente.

Tabela 9. Rezultati iz koeficijenta varijacije (CV): Procentualni odnos (PR)

Član panela	N	Medijana	Centar		Op		Serija		Dan		Ciklus		Unutar analize		Ukupno	
			SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)
LR1,3: mut A (~5% odnos)	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% odnos)	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% odnos)	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% odnos)	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% odnos)	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% odnos)	143 ^a	0,2%	0,00	10,86	0,00	0,00	0,00	12,91	0,00	6,77	0,00	0,00	0,00	22,83	0,00	29,18

^a Jedan uzorak nije detektovan pomoću Xpert NPM1 i isključen je iz analize jer nije bilo kvantitativnog merenja.

Ukupan procenat koeficijenta varijacije (CV) procentualnog odnosa sa prijavljivanjem kvantitativnih vrednosti za umereno pozitivne uzorke LR1,3: mut A, mut B i mut D (~5% odnos) kretao se od 21,74 do 26,23, a za nisko pozitivne uzorke LR2,7: mut A, mut B i mut D (~0,2% odnos) kretao se od 20,68 do 79,22.

24 Reference

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>. Pristupljeno 16. septembra 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 (refer to latest edition). <http://www.cdc.gov/biosafety/publications/>
7. Clinical and Laboratory Standards Institute. Protection of Laboratory Workers from Occupationally Acquired Infections; Approved Guideline. Document M29 (pogledati poslednje izdanje).
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 Lokacije sedišta kompanije Cepheid

Sedišta kompanije

Cepheid
904 Caribbean Drive
Sunnyvale, CA 94089
USA

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

Sedišta u Evropi

Cepheid Europe SAS
Vira Solelh
81470 Maurens-Scopont
France

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

26 Tehnička pomoć

Prikupite sledeće informacije pre nego što se obratite tehničkoj podršci kompanije Cepheid:

- Naziv proizvoda
- Broj serije
- Serijski broj instrumenta
- Poruke o greškama (ako ih ima)
- Verzija softvera i ako je primenjivo, broj servisne oznake računara

Sjedinjene Države





















Telefon: + 1 888 838 3222
I-mejl: techsupport@cepheid.com

Francuska

Telefon: + 33 563 825 319
I-mejl: support@cepheideurope.com

Informacije za kontakt sa svim kancelarijama službe tehničke podrške kompanije Cepheid dostupne su na našem veb-sajtu:
www.cepheid.com/en_US/support/contact-us.

27 Tabela simbola

Simbol	Značenje
	Kataloški broj
	CE oznaka – Evropska usklađenost
	<i>In vitro</i> dijagnostičko medicinsko sredstvo
	Serijski kod
	Ne koristiti ponovo
	Pogledajte uputstvo za upotrebu
	Proizvođač
	Zemlja proizvodnje
	Sadrži dovoljno za <i>n</i> testova
	Kontrola
	Rok upotrebe
	Ograničenje temperature
	Biološki rizici
	Oprez
	Zapaljive tečnosti
	Toksičnost za reprodukciju i organe
	Upozorenje
	Ovlašćeni predstavnik u Evropskoj zajednici
	Ovlašćeni predstavnik u Švajcarskoj
	Uvoznik



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



Cepheid Europe SAS
Vira Solelh
81470 Maurens-Scopont
Francuska
Telefon: + 33 563 825 300
Faks: + 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 Istorija revizija

Odeljak	Opis promene
23	Ispravljena je greška u odeljku „Reproducibilnost i preciznost“.