

Xpert[®] NPM1 Mutation

REF GXNPM1-CE-10

Instruções de utilização

IVD CE

Declarações relativas a marcas registadas, patentes e copyright

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[®], o logótipo da Cepheid, GeneXpert[®], e Xpert[®] são marcas comerciais da Cepheid, registadas nos EUA e noutros países.

Todas as restantes marcas comerciais pertencem aos respetivos proprietários.

A AQUISIÇÃO DESTE PRODUTO ATRIBUI AO COMPRADOR O DIREITO NÃO TRANSFERÍVEL DE O UTILIZAR DE ACORDO COM ESTAS INSTRUÇÕES DE UTILIZAÇÃO. NENHUNS OUTROS DIREITOS SÃO ATRIBUÍDOS EXPRESSAMENTE, POR IMPLICAÇÃO OU POR PRECLUSÃO. ALÉM DISSO, NÃO SE CONFEREM NENHUNS DIREITOS DE REVENDA COM A AQUISIÇÃO DESTE PRODUTO.

© 2022–2023 Cepheid.

Consulte uma descrição das alterações em Secção 28, Histórico de revisões.

Xpert[®] NPM1 Mutation

Para utilização em diagnóstico *in vitro*.

1 Nome proprietário

Xpert[®] NPM1 Mutation

2 Nome comum ou usual

Xpert NPM1 Mutation

3 Finalidade

3.1 Utilização prevista

O teste Xpert NPM1 Mutation, realizado no GeneXpert[®] Dx System da Cepheid é um teste de diagnóstico *in vitro* para a quantificação dos transcritos de ARNm do NPM1 mutante (tipos A, B e D no exão 12) em amostras de sangue periférico de doentes com leucemia mieloide aguda (AML). O teste utiliza a transcrição reversa/reacção em cadeia da polimerase em tempo real (RT-PCR) e comunica o rácio percentual de transcritos de ARNm de NPM1 mutante de controlo endógeno para ABL1. O teste destina-se a ajudar na monitorização de doentes com AML com NPM1 mutado para o nível de transcrito mutante de ARNm em NPM1. O teste deve ser utilizado em conjunto com outros fatores clinicopatológicos.

O teste Xpert NPM1 Mutation não diferencia entre os transcritos de NPM1 mutante e os tipos A, B ou D e não deteta nem monitoriza outros tipos raros de NPM1 mutante. Este teste não se destina a diagnosticar a AML.

3.2 Utilizador/ambiente previsto

O teste Xpert NPM1 Mutation destina-se a ser utilizado por utilizadores com formação em contexto de laboratório.

4 Resumo e explicação

A leucemia mieloide aguda (AML) é um cancro das células mieloides estaminais hematopoiéticas na medula óssea^{1,2} e é conhecido como tendo várias mutações das nucleofosfinas (NPM1) e do exão 12³. A inserção de nucleótidos no exão 12 resulta numa mutação por mudança da matriz de leitura e cria um sinal de exportação nuclear (NES). As mutações no gene NPM1 levam a uma localização citoplasmática aberrante em NPM1 e de proteínas que interagem com NPM1. NPM1 é um dos genes com maiores mutações na AML e as mutações ocorrem em 28% a 35% de todos os casos de AML. Embora haja vários fármacos dirigidos ao alvo do NPM1 com mutações atualmente em investigação, não estão presentemente disponíveis terapêuticas direcionadas aprovadas pela FDA.⁴

O gene NPM1 codifica a proteína de transporte do núcleo celular que tem uma função na biologia dos centrossomas e dos ribossomas, bem como na regulação de outros sistemas celulares, incluindo vias de supressão de tumores. NPM1 é uma fosfoproteína nucleolar que serve como um vaivém entre o núcleo e o citoplasma. Regula o transporte de partículas ribossómicas através da membrana nuclear. As mutações no NPM1 foram descobertas pela primeira vez em indivíduos com AML no seguimento da observação de uma localização citoplasmática anormal, em vez da localização nuclear normal. A avaliação genética de blastos leucémicos combinada com a localização em NPM1 citoplasmático levou ao conhecimento das mutações conhecidas do exão 12 por mudança da matriz de leitura.³ As mutações do NPM1 mais frequentes são do tipo A

(~75-80%), tipo B (~10%) e tipo D (~5%), todas no exão 12, o que resulta numa mutação por mudança da matriz de leitura a partir da inserção de quatro nucleótidos. A mutação causa a perda do sinal de uma localização nucleolar e da localização citoplasmática aberrante da proteína em doentes com AML.⁵

5 Princípio do procedimento

O teste Xpert NPM1 Mutation é um teste automatizado para a quantificação da quantidade de transcritos da mutação em NPM1 como rácio da mutação em NPM1 /ABL1. O teste é realizado no Cepheid GeneXpert Dx System, que automatiza e integra a purificação de amostras, a amplificação de ácidos nucleicos e a deteção da sequência-alvo em amostras simples ou complexas, utilizando ensaios de PCR "nested" e RT-PCR em tempo real. O sistema consiste num instrumento, num computador e em software pré-carregado para executar testes e ver os resultados. O sistema requer a utilização de cartuchos GeneXpert descartáveis, de utilização única, onde são colocados os reagentes de RT-PCR e PCR "nested" e onde decorrem os processos de RT-PCR e PCR "nested". Para obter uma descrição completa do sistema, consulte o *GeneXpert Dx System Operator Manual* adequado.

O teste Xpert NPM1 Mutation inclui reagentes para detetar transcritos da mutação em NPM1 e de ABL1 como um controlo endógeno em amostras de sangue periférico. A quantidade de transcrito da mutação em NPM1 é quantificada como o rácio percentual da mutação em NPM1/ABL1. Há dois controlos incluídos em cada teste Xpert NPM1 Mutation – o controlo endógeno (ABL1) e o controlo de verificação da sonda (Probe Check Control, PCC). O controlo endógeno (ABL1) normaliza o alvo da mutação em NPM1 e assegura que a amostra usada no teste é suficiente. O PCC verifica a reidratação dos reagentes, o enchimento do tubo de PCR e a presença e a funcionalidade de todos os componentes da reação no cartucho, incluindo sondas e corantes.

6 Reagentes e instrumentos

6.1 Materiais fornecidos

O kit Xpert NPM1 Mutation (GXNPM1-CE-10) contém reagentes em quantidade suficiente para o processamento de 10 amostras de teste ou amostras de controlo de qualidade. O kit contém o seguinte:

Xpert NPM1 Mutation Reagentes

10 unidade por cada kit

Proteinase K (PK)	10 x 130 µl por frasco
Componente	Ingrediente do reagente
Proteinase K	< 5%

Reagente de lise (LY) (cloreto de guanidínio)	10 x 5,3 ml por frasco
Componente	Ingrediente do reagente
Cloreto de guanidínio	25 - 50%
Ureia	25 - 50%
Dodecilsulfato de sódio	< 2%

Reagente de lavagem	10 x 2,9 ml por ampola
Componente	Ingrediente do reagente
Etanol	< 50%
Tiocianato de guanidínio	< 50%

Xpert NPM1 Mutation Cartuchos com tubos de reação integrados		10 por kit
Componente	Ingrediente do reagente	Quantidade
Esfera 1 (liofilizada)	Enzima: Taq ADN polimerase < 50 U/esfera	1 por cartucho
	dNTP < 0,05%	
Esfera 2 (liofilizada)	Primers e sondas < 0,005%	1 por cartucho
Esfera 3 (liofilizada)	Primers e sondas < 0,005%	1 por cartucho
Esfera 4 (liofilizada)	Enzima: Taq ADN polimerase < 50 U/esfera	1 por cartucho
	dNTP < 0,05%	
Reagente de enxaguamento	Cloreto de potássio < 4%	2 ml por cartucho
	Azida de sódio < 0,1%	
	Polietilenoglicol < 40%	
	Tween 20 < 0,2%	
Reagente de eluição	Base Trizma < 0,3%	2,5 ml por cartucho
	Cloridrato de Trizma < 0,1%	
	Azida de sódio < 0,05%	

CD**1 por kit**

- Ficheiro de definição do teste (ADF)
- Instruções para importar o ADF para o software GeneXpert
- Instruções de utilização

Nota

A seroalbumina bovina (Bovine Serum Albumin, BSA) presente nas esferas deste produto foi produzida e fabricada a partir de plasma bovino proveniente exclusivamente dos EUA. Os animais não foram alimentados com nenhuma proteína de ruminante ou outra proteína animal e foram aprovados nos testes ante- e post-mortem. Durante o processamento, não houve mistura do material com outros materiais de origem animal.

Nota

Os certificados de análise e as fichas de dados das especificações do lote estão disponíveis através da Assistência Técnica da Cepheid.

7 Materiais necessários, mas não fornecidos

- GeneXpert Dx System (o número de catálogo varia consoante a configuração): instrumento GeneXpert, computador, leitor de código de barras e manual do utilizador.
- Para GeneXpert Dx System: software GeneXpert Dx versão 6.2 ou posterior.
- Impressora: Caso necessite de uma impressora, contacte a assistência técnica da Cepheid para tratar da aquisição de uma impressora recomendada.
- Agitador vórtex
- Microcentrífuga (mínimo de 1000 X g)
- Pipetas e pontas de pipeta com filtro para aerossóis
- Tubos cónicos de 50 ml
- Etanol absoluto grau reagente
- 1X PBS, pH 7.4

8 Conservação e manuseamento

- Conserve o conteúdo do kit Xpert NPM1 Mutation entre 2 °C e 8 °C até ao prazo de validade indicado no rótulo.
- Abra a tampa do cartucho apenas quando estiver tudo pronto para realizar o teste.

- Não utilize cartuchos fora do prazo de validade.
- Não utilize um cartucho com fuga.
- O reagente de lavagem é um líquido transparente e incolor. Não utilize o reagente de lavagem se este ficar turvo ou descolorido.
- Vinte (20) minutos antes de iniciar o procedimento, remova a amostra de sangue, o cartucho e os reagentes de preparação da amostra do local de conservação para permitir que atinjam a temperatura ambiente (20 °C – 30 °C).

9 Advertências e precauções

9.1 Geral

- Para utilização em diagnóstico *in vitro*.
- Trate todas as amostras biológicas, incluindo os cartuchos e reagentes usados, como sendo capazes de transmitir agentes infecciosos. Dado que é frequentemente impossível saber quais as amostras biológicas que poderão ser infecciosas, todas devem ser tratadas aplicando as precauções padrão.
- Estão disponíveis orientações para o manuseamento de amostras nos Centers for Disease Control and Prevention (Centros de Controlo e Prevenção de Doenças) dos EUA⁶ e no Clinical and Laboratory Standards Institute (Instituto de Normas Clínicas e Laboratoriais).⁷
- Siga os procedimentos de segurança determinados pela sua instituição para trabalhar com químicos e manusear amostras biológicas.
- As características do desempenho deste teste foram determinadas apenas com sangue colhido em tubos com EDTA. O funcionamento do teste não foi avaliado com outros tipos de amostras.
- Resultados fiáveis dependem da colheita, transporte, conservação e processamento adequados das amostras. Podem ocorrer resultados de teste incorretos devido a incorreções na colheita, no manuseamento ou na conservação da amostra, erro técnico, troca de amostras ou por o transcrito-alvo na amostra estar abaixo do limite de deteção do teste. Para se evitarem resultados falsos, é necessário cumprir cuidadosamente as instruções de utilização e o *GeneXpert Dx System Operator Manual*.
- A execução do teste Xpert NPM1 Mutation fora dos intervalos de tempo e temperatura de conservação recomendados para o kit ou a amostra pode produzir resultados erróneos ou inválidos.
- Amostras biológicas, dispositivos de transferência e cartuchos usados devem ser considerados como tendo potencial de transmissão de agentes infecciosos que exigem precauções padrão. Siga os procedimentos relativos a resíduos ambientais da sua instituição relativamente à eliminação correta de cartuchos usados e reagentes não usados. Estes materiais podem apresentar características de resíduos químicos perigosos que exigem procedimentos de eliminação nacionais ou regionais específicos. Se as regulamentações nacionais ou regionais não disponibilizarem uma indicação clara sobre a eliminação correta, as amostras biológicas e os cartuchos usados devem ser eliminados de acordo com as diretrizes relativas ao manuseamento e à eliminação de resíduos médicos da OMS (Organização Mundial da Saúde).⁸

9.2 Amostra

- Manter condições de conservação adequadas, para assegurar a integridade da amostra (consulte Secção 11, Colheita e conservação de amostras). Não foi avaliada a estabilidade da amostra em condições de transporte que não as recomendadas.
- Não congelar amostras de sangue periférico em EDTA.
- A colheita, a conservação e o transporte corretos da amostra são essenciais para resultados corretos.


9.3 Teste/reagente

- Não substitua os reagentes Xpert NPM1 Mutation por outros reagentes.
- Não abra a tampa do cartucho Xpert NPM1 Mutation, exceto ao adicionar a amostra e reagente de lavagem.
- Não utilize um cartucho que tiver caído depois de o ter retirado da embalagem.
- Não agite o cartucho. Agitar ou deixar cair o cartucho após a abertura da respetiva tampa pode produzir resultados inválidos.
- Não coloque o rótulo de ID da amostra na tampa do cartucho nem na etiqueta de código de barras do cartucho.
- Não utilize um cartucho que tenha uma etiqueta de código de barras danificada.
- Não utilize um cartucho que tenha um tubo de reação danificado.

- Recomenda-se que os cartuchos Xpert NPM1 Mutation estejam à temperatura ambiente (20 °C – 30 °C) aquando da utilização no teste.
- Cada cartucho de utilização única do teste Xpert NPM1 Mutation é utilizado para processar um teste. Não reutilizar cartuchos processados.
- Transfira a totalidade de uma (1) ampola de reagente de lavagem para a câmara de reagente de lavagem. A não adição de reagente de lavagem pode provocar um resultado falso **NÃO DETETADO (NOT DETECTED)**.
- Não reutilize pontas de pipetas.
- Não utilize um cartucho se este parecer húmido ou se o selo da tampa parecer estar partido.
- Não utilize um cartucho Xpert NPM1 Mutation se tiver adicionado um reagente à abertura errada.
- Não abra os cartuchos Xpert NPM1 Mutation depois de o teste ter sido concluído.
- Utilizar um conjunto de pipetas e reagentes exclusivos para preparação de amostras.
- Use batas e luvas limpas. Troque de luvas entre o processamento de cada amostra.
- Na eventualidade de derrame de amostras ou dos controlos, use luvas e absorva o derrame com toalhetes de papel. Em seguida, limpe minuciosamente a área contaminada com uma diluição de 1:10 de lixívia doméstica à base de cloro. A concentração de cloro ativo final deve ser de 0,5%, independentemente da concentração da lixívia doméstica usada no seu país. Aguarde no mínimo dois minutos de tempo de contacto.
- Certifique-se de que a área de trabalho está seca antes de utilizar etanol a 70% desnaturado para remover os resíduos de lixívia. Aguarde até que a superfície seque completamente antes de prosseguir. Em alternativa, siga os procedimentos padrão da sua instituição para casos de contaminação ou derrame. Relativamente ao equipamento, siga as recomendações do fabricante sobre a descontaminação.

10 Riscos químicos

Nota A informação seguinte aplica-se a todo o produto contendo proteinase K e reagentes de lise, lavagem e enxaguamento.

- Pictograma de perigo CLP/GHS: 
- Palavra-sinal: PERIGO
- **Advertências de perigo GHS da ONU**
 - Líquido e vapor altamente inflamáveis H225.
 - Provoca irritação cutânea H315.
 - Provoca irritação ocular grave H319.
 - Pode provocar sonolência ou vertigens H336.
 - Suspeito de provocar anomalias genéticas H341.
- **Recomendações de prudência GHS da ONU**
 - **Prevenção**
 - Antes da utilização, consultar as instruções especiais na ficha de dados de segurança.
 - Pedir instruções específicas antes da utilização.
 - Não manuseie o produto antes de ter lido e percebido todas as precauções de segurança.
 - Manter afastado do calor, fâsca, chama aberta e/ou superfícies quentes. Não fumar.
 - Manter o recipiente bem fechado.
 - Evitar respirar névoas/vapores/aerossóis.
 - Lavar cuidadosamente após manuseamento.
 - Utilizar apenas ao ar livre ou em locais bem ventilados.
 - Usar luvas de proteção/vestuário de proteção/proteção ocular/proteção facial.
 - Usar o equipamento de proteção individual exigido.
 - **Resposta**
 - Em caso de INCÊNDIO: utilizar os meios adequados para a extinção.
 - EM CASO DE INALAÇÃO: retirar a vítima para uma zona ao ar livre e mantê-la em repouso numa posição que não dificulte a respiração.
 - Caso sinta indisposição, contacte um CENTRO DE INFORMAÇÃO ANTIVENENOS ou um médico.
 - SE ENTRAR EM CONTACTO COM A PELE (ou o cabelo): Retirar imediatamente toda a roupa contaminada. Enxaguar a pele com água/tomar um duche.
 - Tratamento específico (ver informação de primeiros-socorros suplementar no presente rótulo).

- Retirar a roupa contaminada e lavá-la antes de a voltar a usar.
- Em caso de irritação cutânea: consulte um médico.
- SE ENTRAR EM CONTACTO COM OS OLHOS: enxaguar cuidadosamente com água durante vários minutos. Se usar lentes de contacto, retire-as, se tal lhe for possível. Continuar a enxaguar.
- Caso a irritação ocular persista: consulte um médico.
- Em caso de exposição ou suspeita de exposição: consulte um médico.
- **Conservação/Eliminação**
 - Conservar em ambiente fresco.
 - Armazenar em local bem ventilado.
 - Manter o recipiente bem fechado.
 - Armazenar em local fechado à chave.
 - Eliminar o conteúdo e/ou recipiente de acordo com a regulamentação local, regional, nacional e/ou internacional.

11 Colheita e conservação de amostras

- As amostras de sangue periférico devem ser recolhidas em tubos com EDTA de acordo com as diretrizes da sua instituição. O plasma não deve ser separado das células.
- As amostras devem ser armazenadas entre 2 °C e 8 °C por um período máximo de 3 dias (72 horas) antes de serem testadas.
- A colheita e a conservação adequadas das amostras são fundamentais para o funcionamento deste teste. Não foi avaliada a estabilidade da amostra noutras condições de conservação além das indicadas na Secção 12, Procedimentos abaixo com o teste Xpert NPM1 Mutation.

12 Procedimento

12.1 Antes de começar

Vinte (20) minutos antes de iniciar o procedimento, remova a amostra de sangue, os reagentes de preparação da amostra e os cartuchos do local de conservação refrigerado para permitir que alcancem a temperatura ambiente. Centrifugue brevemente a proteinase K (PK) numa microcentrífuga.

Importante Inicie o teste no período de 1 hora após a adição da amostra tratada com reagente de amostra ao cartucho.

Importante Remova o cartucho da embalagem de cartão antes de preparar a amostra. (Consulte a Secção 12.3, Preparação do cartucho).

12.2 Preparação da amostra

12.2.1 Preparar a amostra com contagem de glóbulos brancos desconhecida ou amostras com menos de 30 milhões de glóbulos brancos/ml

1. No fundo de um tubo cónico novo, com rótulo de 50 ml, adicione 100 µl de proteinase (PK).
2. Certifique-se de que a amostra de sangue é bem misturada, invertendo 8 vezes o tubo de colheita de sangue imediatamente antes da pipetagem. Consulte as instruções do fabricante para cada tipo de tubo de colheita de sangue com EDTA.
3. Ao tubo já contendo a PK, adicione 4 ml da amostra de sangue.
4. Agite a amostra em vórtex continuamente à velocidade máxima durante 3 segundos.
5. Incube à temperatura ambiente durante 1 minuto.
6. Ao mesmo tubo adicione 2,5 ml de reagente de lise (LY).

Nota Conserve o restante reagente de lise para utilizar novamente no Passo 13.

7. Agite a amostra em vórtex continuamente à velocidade máxima durante 10 segundos.
8. Incube à temperatura ambiente durante 5 minutos.

9. Agite a amostra em vórtex continuamente à velocidade máxima durante 10 segundos.
10. Incube à temperatura ambiente durante 5 minutos.
11. Misture a amostra batendo levemente 10 vezes no fundo do tubo.
12. Transfira 1 ml do lisado preparado para um novo tubo cônico, com rótulo de 50 ml.

Nota

O lisado restante pode ser conservado entre 2 °C e 8 °C até 48 horas ou conservado a -20 °C ou menos durante 1 mês no máximo.

13. Ao novo tubo cônico contendo o lisado, adicione 1,5 ml de LY conservado no Passo 6.
14. Agite a amostra em vórtex continuamente à velocidade máxima durante 10 segundos.
15. Incube à temperatura ambiente durante 10 minutos.
16. Ao mesmo tubo cônico adicione 2 ml de etanol absoluto grau reagente (fornecido pelo utilizador).
17. Agite a amostra em vórtex continuamente à velocidade máxima durante 10 segundos. Ponha de parte.
18. Elimine o remanescente dos reagentes PK ou LY.

12.2.2 Preparar a amostra com contagem de glóbulos brancos igual ou superior a 30 milhões WBC/ml

1. No fundo de um tubo cônico de 50 ml novo adicione 100 µl de PK.
2. Certifique-se de que a amostra de sangue é bem misturada, invertendo 8 vezes o tubo de colheita de sangue imediatamente antes da pipetagem. Consulte as instruções do fabricante para cada tipo de tubo de colheita de sangue com EDTA.
3. Ao tubo já contendo a PK, adicione 250 µl da amostra de sangue e 3,75 ml de 1xPBS (pH7.4, fornecido pelo utilizador).
4. Agite a amostra em vórtex continuamente à velocidade máxima durante 3 segundos.
5. Incube à temperatura ambiente durante 1 minuto.
6. Siga os passos 6-17 na Secção 12.2.1 para obter o lisado final.
7. Elimine o remanescente dos reagentes PK ou LY.

12.3 Preparação do cartucho

Para adicionar a amostra ao cartucho Xpert NPM1 Mutation:

1. Remova o cartucho da embalagem de cartão.
2. Inspeccione o cartucho para verificar se existem danos. Não utilize se estiver danificado.
3. Abra o cartucho levantando a tampa e transfira todo o conteúdo de uma (1) ampola do reagente de lavagem para a câmara do reagente de lavagem (com a abertura pequena). Ver Figura 1.
4. Pipete a totalidade da amostra preparada (4,5 ml) para a câmara de amostra (abertura grande). Ver Figura 1.

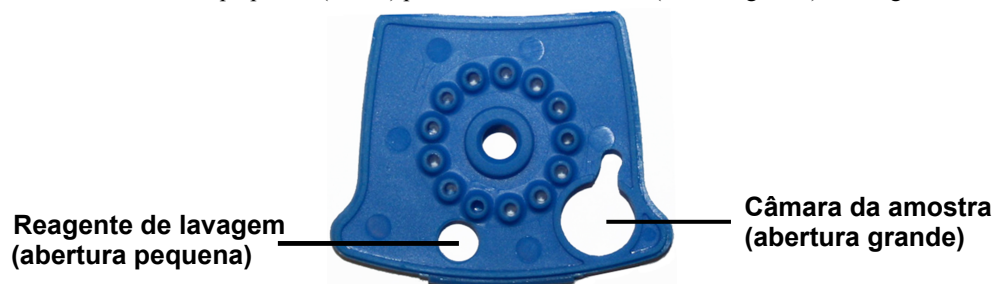


Figura 1. Xpert NPM1 Mutation Cartucho (vista de cima)

5. Feche a tampa do cartucho. Certifique-se de que a tampa fica bem fechada. Iniciar teste (ver Secção 12.4, Iniciar o teste).

12.4 A iniciar o teste

Importante Antes de iniciar o teste, certifique-se de que o sistema está a executar o software GeneXpert Dx versão 6.2 ou posterior e de que o ficheiro de definição do teste correto é importado para o software. Esta secção enumera os passos predefinidos para utilizar o GeneXpert Dx System.

Nota Os passos a seguir poderão ser diferentes se o administrador do sistema tiver alterado o fluxo de trabalho predefinido do sistema.

1. Ligue o sistema GeneXpert ligando inicialmente o instrumento GeneXpert Dx e em seguida ligando o computador. O software GeneXpert Dx inicia automaticamente ou pode ser necessário clicar duas vezes no ícone de atalho do software GeneXpert Dx no ambiente de trabalho do Windows®.
 2. Inicie sessão no software GeneXpert utilizando o seu nome de utilizador e palavra-passe.
 3. Na janela do **sistema GeneXpert**, clique em **Criar teste (Create Test)** (GeneXpert Dx). A janela **Criar teste (Create Test)** abre-se.
 4. Leia ou introduza a ID do doente (Patient ID). Se digitar a ID do doente (Patient ID), assegure-se de que digita a ID do doente correta. A ID do doente (Patient ID) é associada aos resultados do teste e é apresentada na janela **Ver resultados (View Results)** e em todos os relatórios. A caixa de diálogo **Ler código de barras da ID da amostra (Scan Sample ID Barcode)** abre-se.
 5. Leia ou introduza a ID da amostra (Sample ID). Se digitar a ID da amostra (Sample ID), assegure-se de que digita a ID da amostra correta. A ID da amostra é apresentada do lado esquerdo da janela **Ver resultados (View Results)** e em todos os relatórios. Abre-se a caixa de diálogo **Ler código de barras do cartucho (Scan Cartridge Barcode)**.
 6. Leia o código de barras do cartucho Xpert NPM1 Mutation. Utilizando a informação do código de barras, o software preenche automaticamente as caixas dos seguintes campos: ID lote de reagente (Reagent Lot ID), N/S do cartucho (Cartridge S/N) e Prazo de validade (Expiration Date).
-

Nota Se o código de barras no cartucho Xpert NPM1 Mutation não puder ser lido digitalmente, repita o teste com um novo cartucho. Se tiver lido o código de barras do cartucho no software e o ficheiro de definição do teste não estiver disponível, aparecerá um ecrã que indica que o ficheiro de definição do ensaio não está carregado no sistema. Se este ecrã aparecer, contacte a assistência técnica da Cepheid.

7. Faça clique em **Iniciar teste (Start Test)**. Pode ser necessário digitar a sua palavra-passe na caixa de diálogo que surge.
 8. Abra a porta do módulo do instrumento com a luz verde a piscar e carregue o cartucho.
 9. Feche a porta. O teste começa e a luz verde para de piscar. Quando o teste termina, a luz desliga-se.
 10. Aguarde até o sistema desbloquear a porta do módulo antes de a abrir e retire o cartucho.
 11. Elimine os cartuchos usados nos recipientes para resíduos de amostras apropriados, de acordo com as práticas padrão da sua instituição.
-

Nota O tempo até ao resultado é inferior a 3 horas (aproximadamente 30 minutos para preparação da amostra à parte e menos de 2,5 horas para execução do teste).

13 Visualização e impressão de resultados

Esta secção discrimina os passos básicos para a visualização e a impressão dos resultados. Para obter instruções detalhadas sobre como ver e imprimir os resultados, consulte o *GeneXpert Dx System Operator Manual*.

- Clique no ícone **Ver resultados (View Results)** para visualizar os resultados.
- Após a conclusão do teste, clique no botão **Comunicar (Report)** do ecrã **Ver resultados (View Results)** para visualizar e/ou gerar um relatório em ficheiro pdf.

14 Controlo de qualidade

Cada cartucho inclui um controlo endógeno ABL1 e um controlo de verificação da sonda (PCC).

Controlo endógeno ABL1 — O controlo endógeno ABL1 confirma que é utilizada amostra suficiente no teste. Adicionalmente, este controlo deteta a inibição do ensaio de PCR em tempo real associada à amostra. O ABL1 é aprovado se preencher os critérios de aceitação atribuídos.

Controlo de verificação da sonda (PCC) — Antes do início da reação PCR, o sistema GeneXpert mede o sinal de fluorescência das sondas para monitorizar a reidratação da esfera, o enchimento do tubo de reação e a funcionalidade de todos os componentes de reação no cartucho. O PCC é aprovado se preencher os critérios de aceitação atribuídos.

15 Interpretação dos resultados

Os resultados são automaticamente interpretados pelo sistema GeneXpert através da medição de sinais fluorescentes e algoritmos de cálculo integrados, sendo apresentados na janela Ver resultados (View Results). Os resultados possíveis e respetivas interpretações são apresentados na Tabela 1.

Tabela 1. Resultados do teste Xpert NPM1 Mutation e sua interpretação

Resultado	Interpretação
NPM1 Mutation DETETADO (NPM1 Mutation DETECTED) Ver Figura 2, Figura 3, Figura 4	<p>O transcrito da mutação em NPM1 foi detetado.</p> <ul style="list-style-type: none"> • NPM1 Mutation DETETADO (NPM1 Mutation DETECTED) – O transcrito da mutação em NPM1 foi detetado e tem um limiar de ciclo (Ct) dentro do intervalo válido e um endpoint (ponto final) acima do limiar definido. • Resultados possíveis detetados: <ul style="list-style-type: none"> • NPM1 MUTATION DETETADO [#.##%] (NPM1 MUTATION DETECTED [#.##%]); Figura 2. • NPM1 MUTATION DETETADO (NPM1 MUTATION DETECTED) [Acima do LoQ superior]; Figura 3. • NPM1 MUTATION DETETADO (NPM1 MUTATION DETECTED) [Abaixo do LoD; <#.###%]; Figura 4. • ABL APROVADO (ABL PASS) – O transcrito ABL foi detetado e tem um limiar de ciclo (Ct) dentro do intervalo válido e um endpoint (ponto final) acima do limiar definido. • Verificação da sonda APROVADO (PASS) – Todos os resultados de verificação da sonda foram aprovados.
NPM1 Mutation NÃO DETETADO (NPM1 Mutation NOT DETECTED) Ver Figura 5	<p>O transcrito da mutação em NPM1 não foi detetado.</p> <ul style="list-style-type: none"> • NPM1 Mutation NÃO DETETADO – [Transcrito ABL suficiente] (NPM1 Mutation NOT DETECTED [Sufficient ABL transcript]) – O transcrito da mutação em NPM1 não foi detetado e tem um limiar de ciclo (Ct) de zero ou acima da extremidade superior do intervalo válido e um endpoint (ponto final) abaixo do limiar definido. • ABL APROVADO (ABL PASS) – O transcrito ABL foi detetado e tem um limiar de ciclo (Ct) dentro do intervalo válido e um endpoint (ponto final) acima do limiar definido. • Verificação da sonda APROVADO (PASS) – Todos os resultados de verificação da sonda foram aprovados.
INVÁLIDO (INVALID) Ver Figura 6, Figura 7, Figura 8, Figura 9, Figura 10	<p>O nível do transcrito da mutação em NPM1 não pode ser determinado devido à amostra conter transcrito da mutação em NPM1 em excesso e/ou transcrito de ABL em excesso e/ou insuficiente. Ver Secção 18, Guia de resolução de problemas, para instruções adicionais para repetir o teste da amostra.</p> <ul style="list-style-type: none"> • NPM1 Mutation INVÁLIDO (NPM1 Mutation INVALID) – O limiar de ciclo (Ct) de NPM1 estava acima de zero e abaixo da extremidade inferior do intervalo válido (Figura 8, Figura 9) • ABL FALHOU (ABL FAIL) – O limiar de ciclo (Ct) de ABL não estava dentro do intervalo válido nem o endpoint (ponto final) estava abaixo da definição de limiar (Figura 6, Figura 7, Figura 8, Figura 10) • Verificação da sonda — APROVADO (PASS); todos os resultados de verificação da sonda foram aprovados.
ERRO (ERROR) Ver Figura 11	<p>Não é possível determinar o nível de transcrito da mutação em NPM1. Ver Secção 18, Guia de resolução de problemas, para instruções adicionais para repetir o teste da amostra.</p> <ul style="list-style-type: none"> • NPM1 Mutation SEM RESULTADO (NO RESULT) • ABL SEM RESULTADO (NO RESULT) • Verificação da sonda FALHOU (FAIL) – Um ou todos os resultados de verificação da sonda falharam. • Verificação da sonda APROVADA (PASS) ou NA (não aplicável) e abortado por pressão*. <p>* Se a verificação da sonda foi aprovada, o erro foi causado porque o limite máximo da pressão excedeu o intervalo aceitável ou porque houve falha de um componente do sistema.</p>
SEM RESULTADO (NO RESULT)	<p>Não é possível determinar o nível de transcrito da mutação em NPM1. Não foram recolhidos dados suficientes para produzir um resultado de teste. Isto pode ocorrer, por exemplo, se o utilizador parou um teste que estava em curso. Ver Secção 18, Guia de resolução de problemas, para instruções adicionais para repetir o teste das amostras.</p> <ul style="list-style-type: none"> • NPM1 Mutation SEM RESULTADO (NO RESULT) • ABL SEM RESULTADO (NO RESULT) • Verificação da sonda NA (não aplicável)

16 Resultados quantitativos

Os resultados quantitativos do Xpert NPM1 Mutation são fornecidos sob a forma de rácio percentual da mutação em NPM1/ABL1. São atribuídos aos kits valores de eficiência ($E_{\Delta Ct}$) e de fator de escala (SF) específicos do lote que relacionam a quantificação de transcritos da mutação em NPM1 (A, B, e D) e de ABL1 para números de cópias dos padrões primários de ARN (IVT-RNA) transcrito da mutação em NPM1 sintético e de ABL1 *in vitro*.

Tabela 2. Exemplos de resultados de teste do Xpert NPM1 Mutation

Teste	NPM1 mutante		ABL		Xpert NPM1 Mutation Resultados de teste	Notas
	Ct	Resultado ^a	Ct	Resultado ^a		
1	5,2	INVÁLIDO (INVALID)	5,8	REPROVADO (FAIL)	INVÁLIDO (INVALID) [Transcritos NPM1 Mutation e ABL demasiado elevados]	NA
2	9	INVÁLIDO (INVALID)	5,5	REPROVADO (FAIL)	INVÁLIDO [Transcritos ABL demasiado elevados] (INVALID [Too high ABL transcripts])	NA
3	5,5	INVÁLIDO (INVALID)	8,5	APROVADO (PASS)	INVÁLIDO [Transcritos NPM1 Mutation demasiado elevados] (INVALID [Too high ABL transcripts])	NA
4	25,0	INVÁLIDO (INVALID)	21,8	REPROVADO (FAIL)	INVÁLIDO [Transcrito ABL insuficiente] (INVALID [Insufficient ABL transcript])	NA
5	0	INVÁLIDO (INVALID)	0	REPROVADO (FAIL)	INVÁLIDO [Sem transcrito ABL] (INVALID [No ABL transcript])	NA
6	8,5	POS	13,6	APROVADO (PASS)	NPM1 MUTATION DETETADO (NPM1 Mutation DETECTED) [Acima do LoQ superior]	NA
7	22,5	POS	14,8	APROVADO (PASS)	NPM1 Mutation DETETADO [1,05%] (NPM1 Mutation DETECTED) [1,05%]	Valor notificado: 1,05%
8	27,9	POS	14,0	APROVADO (PASS)	NPM1 MUTATION DETETADO (NPM1 Mutation DETECTED) [Abaixo do LoD; <0,030%]	NA
9	0	NEG	14,6	APROVADO (PASS)	NEGATIVO [Transcrito ABL suficiente] (NEGATIVE [Sufficient ABL transcript])	NA
10	0	SEM RESULTADO (NO RESULT)	0	SEM RESULTADO (NO RESULT)	ERRO (ERROR)	Por exemplo: Erro 5017 A verificação da sonda [ABL] falhou

^a Consulte mais detalhes no separador Resultados do analito no software do sistema GeneXpert Dx.

16.1 NPM1 MUTATION DETETADO [#,##]% (NPM1 Mutation DETECTED [#,##]%)

A mutação em NPM1 foi detetada a um nível de #,##%.

Para um resultado “NPM1 MUTATION DETETADO [#,##%] (NPM1 Mutation DETECTED [#,##%])”, a mutação em NPM1 é detetável com o limiar de ciclo (Ct) da mutação em NPM1 superior ou igual a “6” e inferior ou igual a “32” e o limiar de ciclo (Ct) de ABL superior ou igual a “6” e inferior ou igual a “20”. O software GeneXpert calcula a % utilizando a seguinte equação em que o valor Delta Ct (ΔCt) é obtido subtraindo o ABL Ct ao NPM1 Mutation Ct:

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

Nota

O fator de escala (SF) é um parâmetro específico do lote que está incorporado no código de barras do cartucho de teste. O valor deste fator e a eficiência do teste específico do lote ($E_{\Delta Ct}$) são determinados em testes de controle de qualidade de cada lote de teste utilizando padrões primários calibrados para os números de cópias da mutação em NPM1 sintético e calibradores de ARN transcrito (IVT-RNA) de ABL1 *in vitro* para quantificação do transcrito da mutação em NPM1. O valor $E_{\Delta Ct}$ está definido para 1,95 e o valor SF está definido para 1,79 para utilizar no exemplo aqui mostrado.

Exemplo: $E_{\Delta Ct}$ específico do lote = 1,95; SF = 1,79
Limiar de ciclo (Ct) de ABL do teste = 14,5; Limiar de ciclo (Ct) da mutação em NPM1 = 17,1; ΔCt = -2,6
 $\% = 1,95^{(-2,6)} \times 100 \times 1,79 = 31,53\%$

Resultado (Result): NPM1 Mutation DETETADO (NPM1 Mutation DETECTED) [31,53%]. Ver Figura 2.

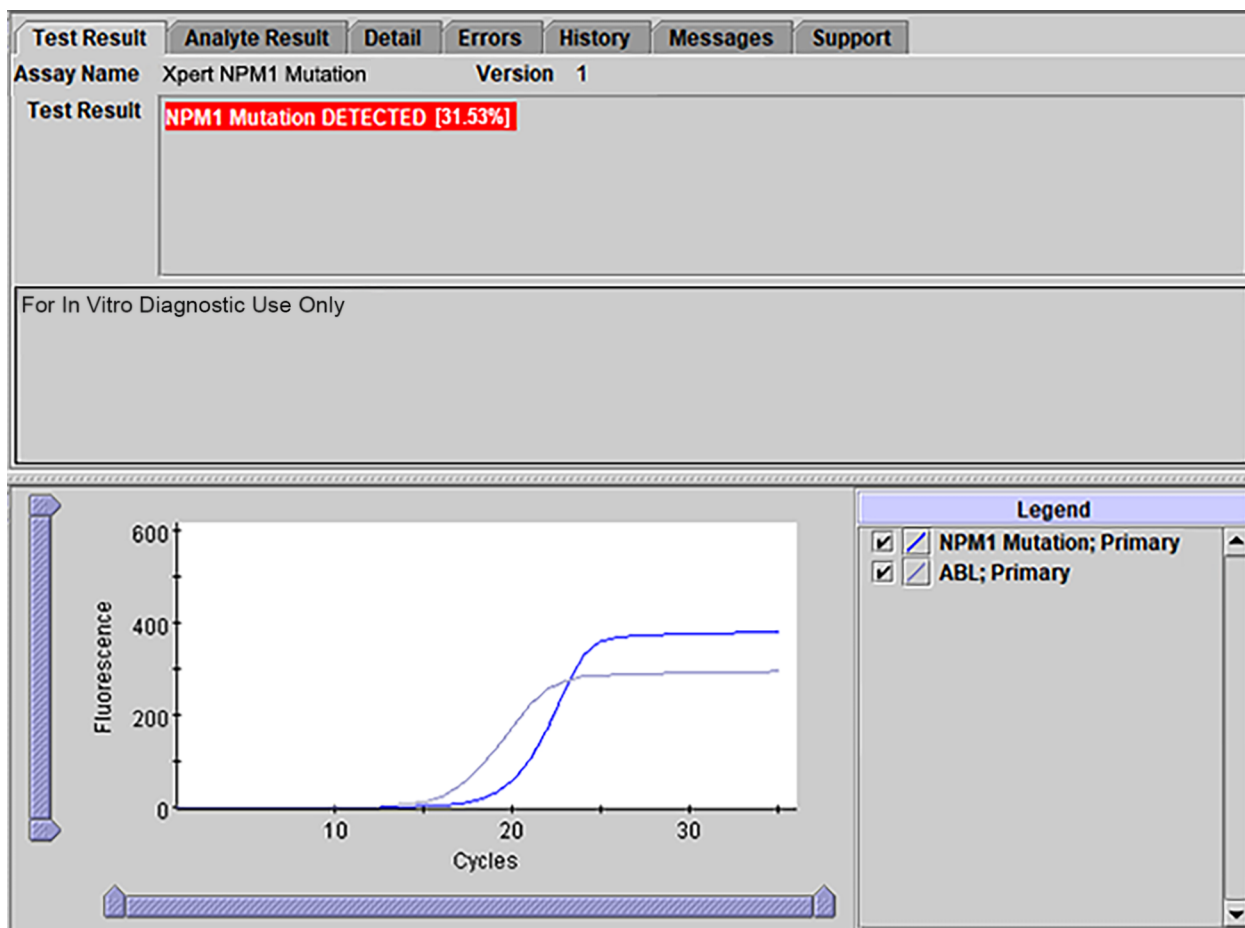


Figura 2. Janela Ver resultados (View Results) do GeneXpert Dx: NPM1 Mutation DETETADO (NPM1 Mutation DETECTED) [31,53%]

16.2 NPM1 MUTATION DETETADO (NPM1 Mutation DETECTED) [Acima do LoQ superior]

A mutação em NPM1 foi detetada a um nível > 500%.

Para um resultado “**NPM1 MUTATION DETETADO (NPM1 Mutation DETECTED) [Acima do LoQ superior]**”, a mutação em NPM1 é detetável com o limiar de ciclo (Ct) da mutação em NPM1 superior ou igual a “6” e inferior ou igual a “32” e o limiar de ciclo (Ct) de ABL superior ou igual a “6” e inferior ou igual a “20”. O software GeneXpert calcula a % utilizando a seguinte equação em que o valor Delta Ct (ΔCt) é obtido subtraindo o ABL Ct ao NPM1 Mutation Ct:

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

O fator de escala (SF) é um parâmetro específico do lote que está incorporado no código de barras do cartucho de teste. O valor deste fator e a eficiência do teste específico do lote ($E_{\Delta Ct}$) são determinados em testes de controlo de qualidade de cada lote de teste utilizando padrões primários calibrados para os números de cópias da mutação em NPM1 sintético e calibradores de ARN transcrito (IVT-RNA) de ABL1 *in vitro* para quantificação do transcrito da mutação em NPM1. O valor $E_{\Delta Ct}$ está definido para 1,95 e o valor SF está definido para 1,79 para utilizar no exemplo aqui mostrado.

Nota

Exemplo: $E_{\Delta Ct}$ específico do lote = 1,95; SF = 1,79
 Limiar de ciclo (Ct) de ABL do teste = 13,4; Limiar de ciclo (Ct) da mutação em NPM1= 10,2; $\Delta Ct = 3,2$
 $\% = 1,95^{(3,2)} \times 100 \times 1,79 = 1516,92\%$ é superior ao LoQ superior do teste definida a 500%

Resultado (Result): **NPM1 MUTATION DETETADO (NPM1 Mutation DETECTED) [Acima do LoQ superior].**
 Ver Figura 3.

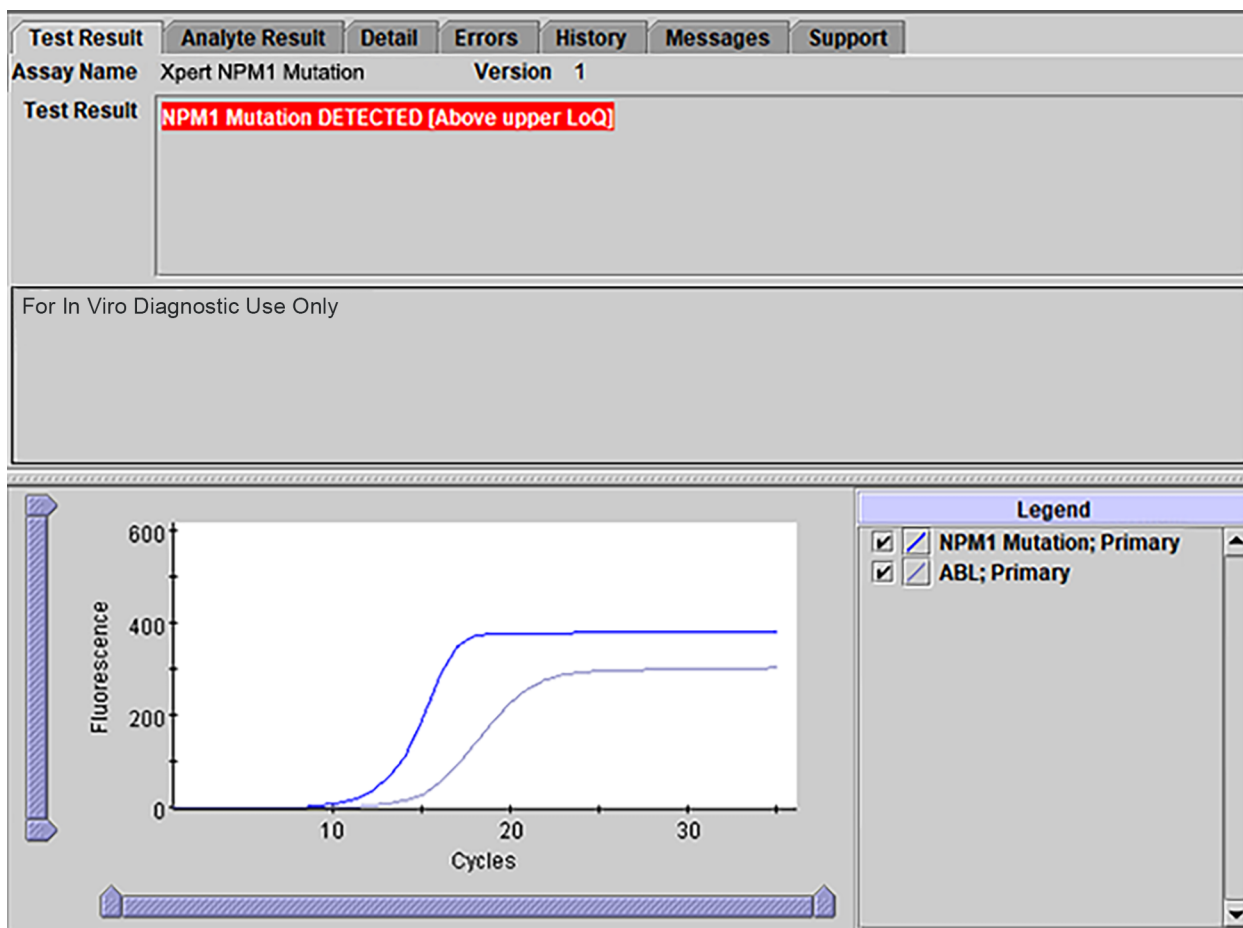


Figura 3. Janela Ver resultados (View Results) do GeneXpert Dx: NPM1 MUTATION DETETADO (NPM1 Mutation DETECTED) [Acima do LoQ superior]

16.3 NPM1 MUTATION DETETADO (NPM1 Mutation DETECTED) [Abaixo do LoD; <0,030%]

A mutação em NPM1 foi detetada a um nível < 0,030%.

Para um resultado “**NPM1 MUTATION DETETADO (NPM1 Mutation DETECTED) [Abaixo do LoD; <0,030%]**”, a mutação em NPM1 é detetável com o limiar de ciclo (Ct) da mutação em NPM1 superior ou igual a “6” e inferior ou igual a “32” e o limiar de ciclo (Ct) de ABL superior ou igual a “6” e inferior ou igual a “20”. O software GeneXpert calcula a % utilizando a seguinte equação em que o valor Delta Ct (ΔCt) é obtido subtraindo o ABL Ct ao NPM1 Mutation Ct:

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

Nota

O fator de escala (SF) é um parâmetro específico do lote que está incorporado no código de barras do cartucho de teste. O valor deste fator e a eficiência do teste específico do lote ($E_{\Delta Ct}$) são determinados em testes de controle de qualidade de cada lote de teste utilizando padrões primários calibrados para os números de cópias da mutação em NPM1 sintético e calibradores de ARN transcrito (IVT-RNA) de ABL1 *in vitro* para quantificação do transcrito da mutação em NPM1. O valor $E_{\Delta Ct}$ está definido para 1,95 e o valor SF está definido para 1,79 para utilizar no exemplo aqui mostrado.

Exemplo: $E_{\Delta Ct}$ específico do lote = 1,95; SF = 1,79
 Limiar de ciclo (Ct) de ABL do teste = 14,3; Limiar de ciclo (Ct) da mutação em NPM1 = 28,8; $\Delta Ct = -14,5$
 $\% = 1,95^{(-14,5)} \times 100 \times 1,79 = 0,011\%$ é inferior ao LoD definido para o teste em 0,030%

Resultado (Result): **NPM1 MUTATION DETETADO (NPM1 Mutation DETECTED) [Abaixo do LoD; <0,030%]**
 . Ver Figura 4.

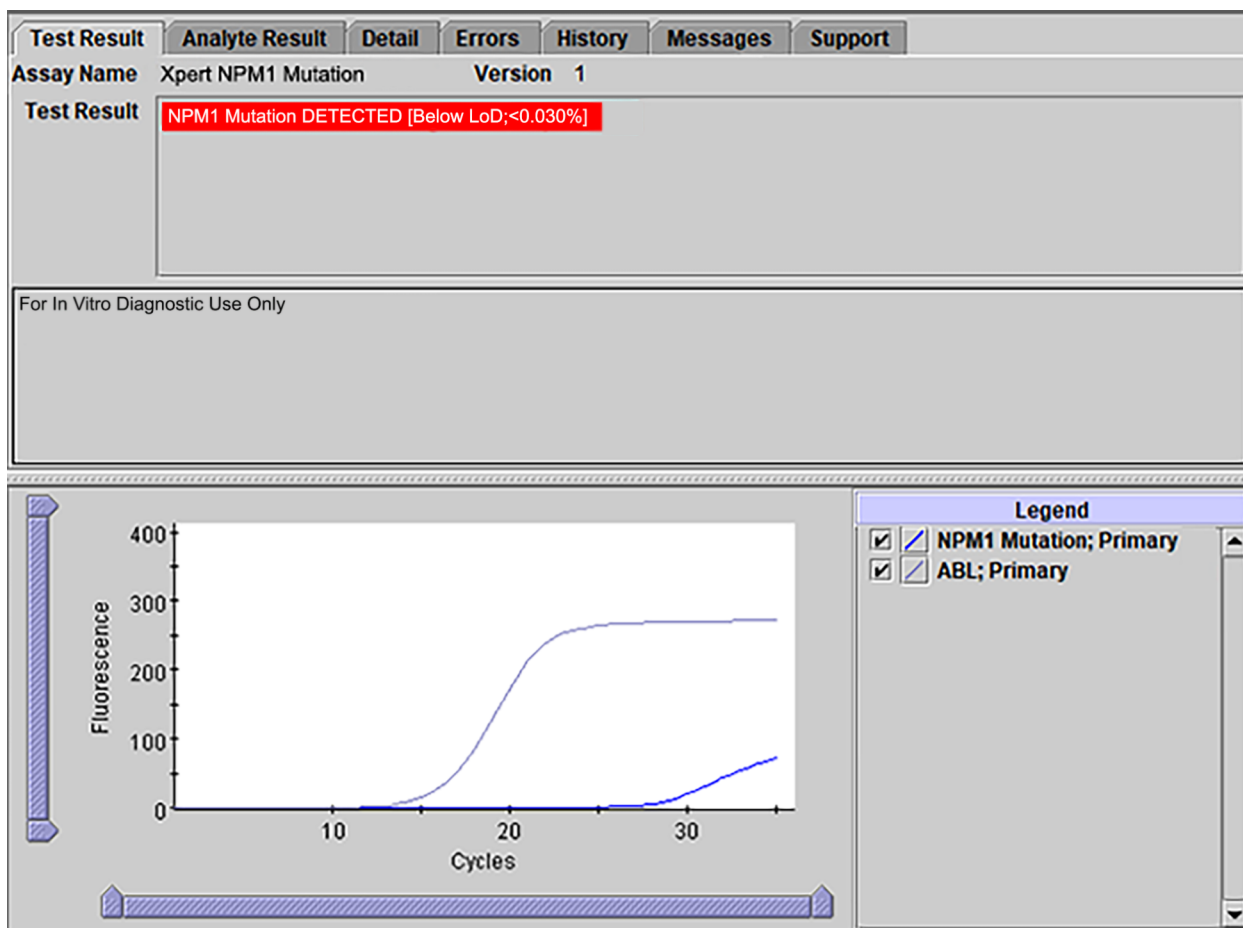


Figura 4. Janela Ver resultados do GeneXpert: NPM1 MUTATION DETETADO (NPM1 Mutation DETECTED) [Abaixo do LoD; <0,030%]

16.4 NPM1 Mutation NÃO DETETADO [Transcrito ABL suficiente] (NPM1 Mutation NOT DETECTED [Sufficient ABL transcript])

Não foi detetada mutação em NPM1 com limiar de ciclo (Ct) da mutação em NPM1 igual a “0” ou superior a “32” e limiar de ciclo (Ct) de ABL superior a “6” e igual ou inferior a “20”.

O software GeneXpert exige que o limiar de ciclo (Ct) de ABL seja superior ou igual a “6” e inferior ou igual a “20” para o teste Xpert NPM1 Mutation garantir que haja “transcrito ABL suficiente”. Ver Secção 15, Interpretação de resultados, Tabela 1.

Exemplo: Limiar de ciclo (Ct) de mutação em NPM1 do teste = 0; Limiar de ciclo (Ct) de ABL = 14,0 situa-se entre "6" e "20".

Resultado (Result): **NPM1 Mutation NÃO DETETADO [Transcrito ABL suficiente] (NPM1 Mutation NOT DETECTED [Sufficient ABL transcript]).** Ver Figura 5.

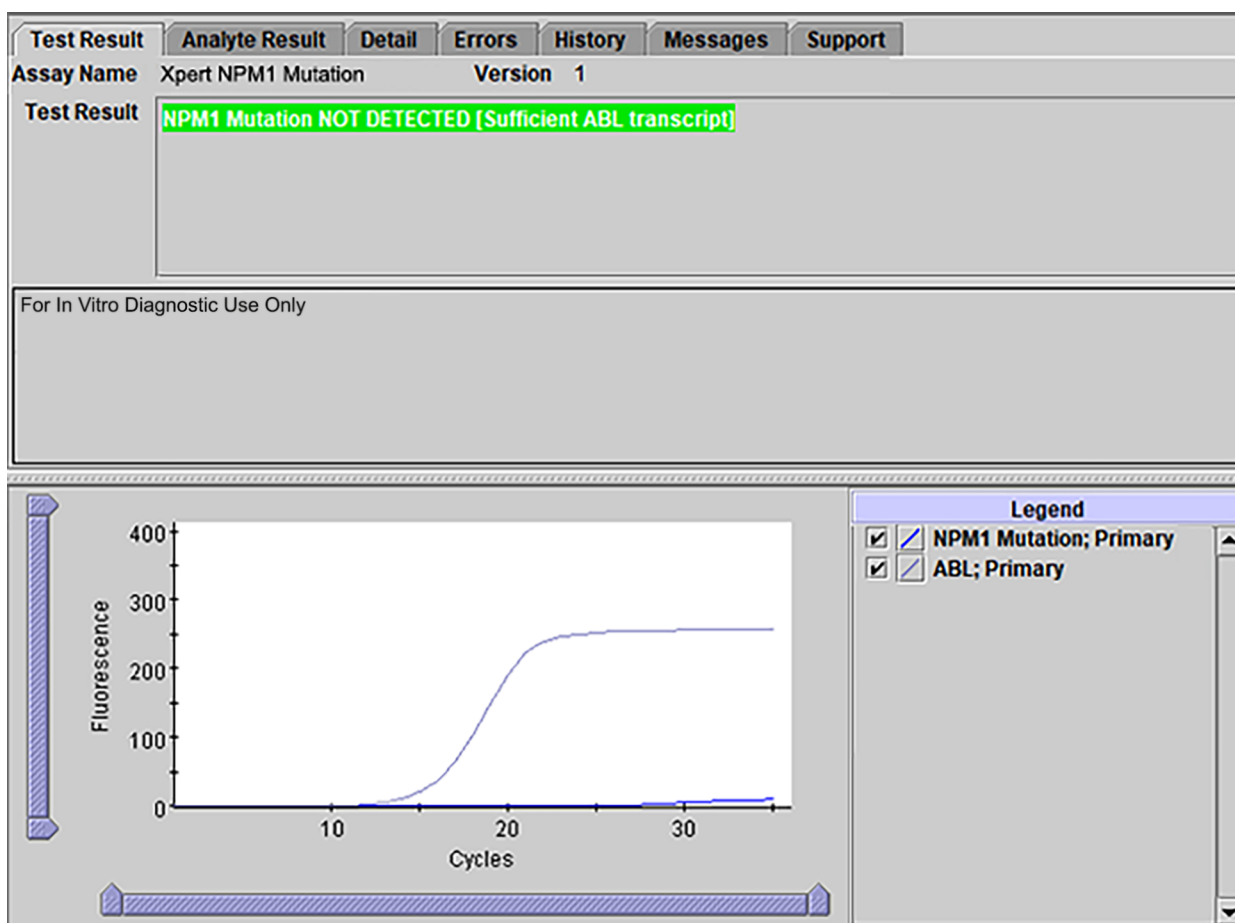


Figura 5. Janela Ver resultados do GeneXpert: NPM1 Mutation NÃO DETETADO [Transcrito ABL suficiente] (NPM1 Mutation NOT DETECTED [Sufficient ABL transcript])

16.5 INVÁLIDO [Sem transcrito ABL] (INVALID [No ABL transcript])

A mutação em NPM1 foi detetada ou não detetada com o limiar de ciclo (Ct) de ABL igual a “0”.

O software GeneXpert exige que o limiar de ciclo (Ct) de ABL seja superior ou igual a “6” e inferior ou igual a “20” para o teste Xpert NPM1 Mutation garantir que haja “transcrito ABL suficiente”. Consulte a Secção 18, Guia de resolução de problemas.

Exemplo: Limiar de ciclo (Ct) da mutação em NPM1 do teste = 0; ABL Ct = 0.

Resultado (Result): **INVÁLIDO [Sem transcrito ABL] (INVALID [No ABL transcript]).** Ver Figura 6.

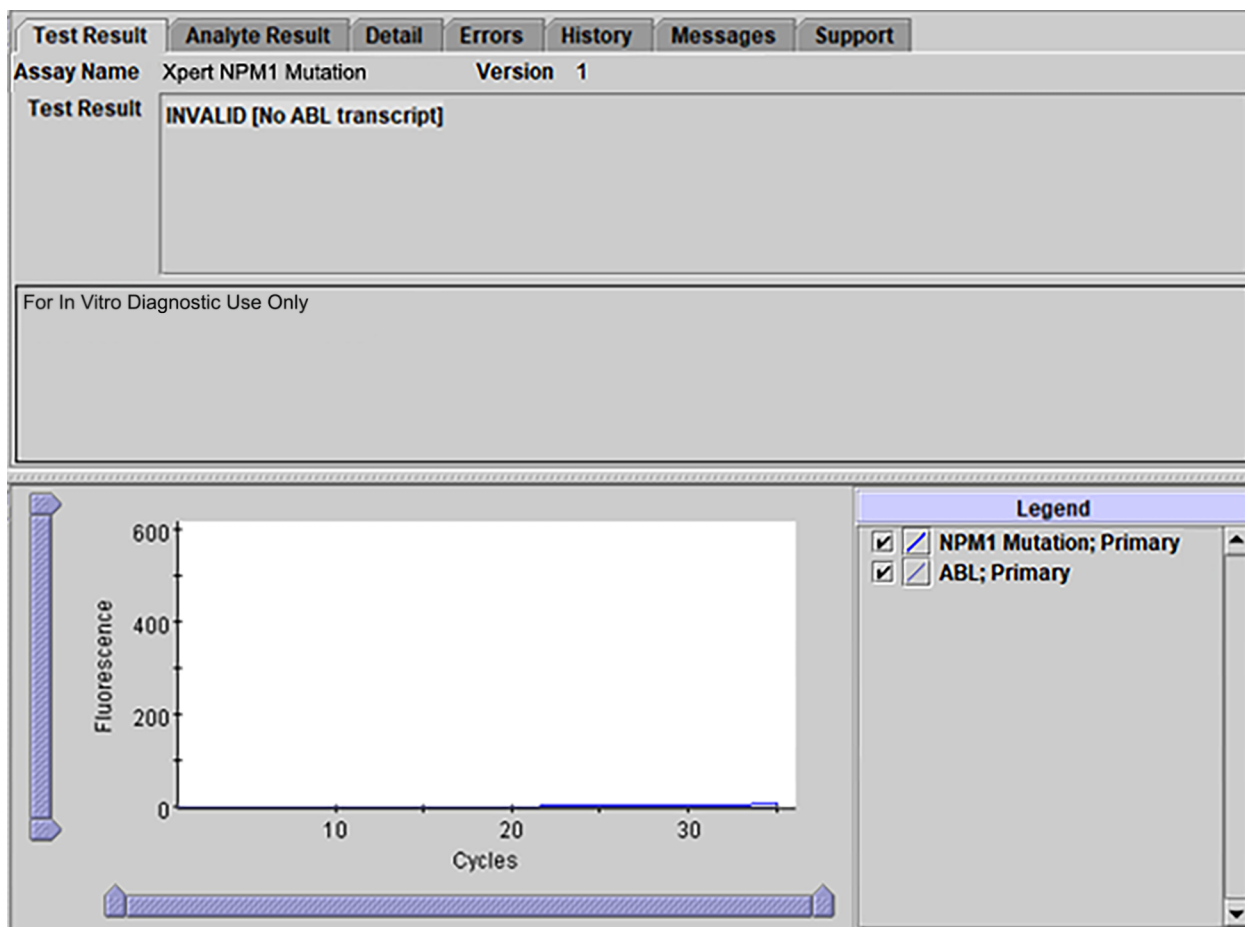


Figura 6. Janela Ver resultados do GeneXpert: INVÁLIDO [Sem transcrito ABL] (INVALID [No ABL transcript])

16.6 INVÁLIDO [Transcrito ABL insuficiente] (INVALID [Insufficient ABL transcript])

A mutação em NPM1 foi detetada ou não detetada com o limiar de ciclo (Ct) de ABL superior a “20”.

O software GeneXpert exige que o limiar de ciclo (Ct) de ABL seja superior ou igual a “6” e inferior ou igual a “20” para o teste Xpert NPM1 Mutation garantir que haja “transcrito ABL suficiente”. Consulte a Secção 18, Guia de resolução de problemas.

Exemplo: Limiar de ciclo (Ct) da mutação em NPM1 do teste = 33,3; Limiar de ciclo (Ct) de ABL = 20,2 é superior a “20”.

Resultado (Result): **INVÁLIDO [Transcrito ABL insuficiente] (INVALID [Insufficient ABL transcript]).** Ver Figura 7.

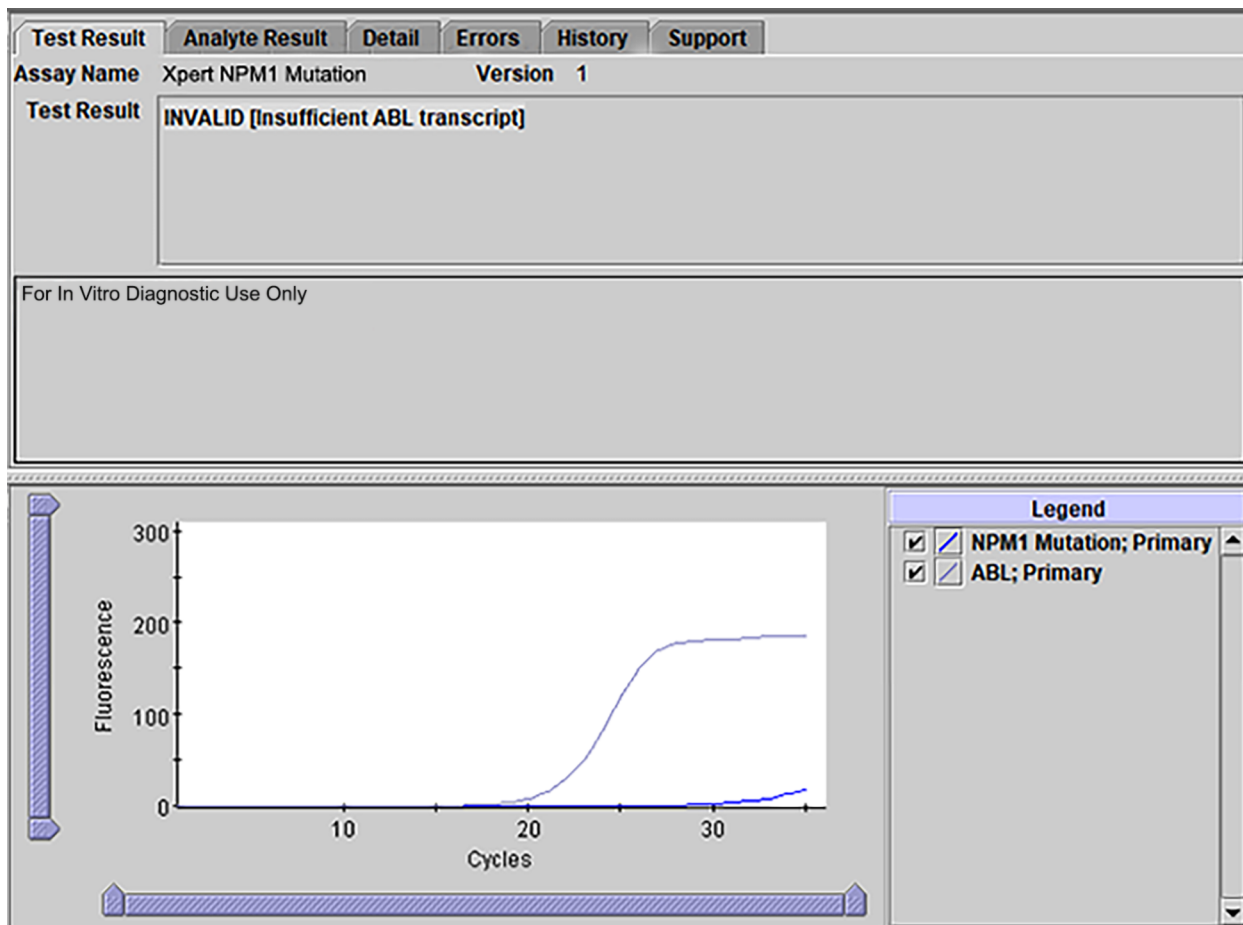


Figura 7. Janela Ver resultados do GeneXpert: INVÁLIDO [Transcrito ABL insuficiente] (INVALID [Insufficient ABL transcript])

16.7 INVÁLIDO (INVALID) [Transcrito NPM1 Mutation e ABL muito elevado]

A mutação em NPM1 foi detetada com os limiares de ciclo (Ct) da mutação em NPM1 e de ABL superiores a "0" e inferiores a "6".

O software GeneXpert exige que o limiar de ciclo (Ct) de ABL seja superior ou igual a "6" e inferior ou igual a "20" para o teste Xpert NPM1 Mutation garantir que haja "transcrito ABL suficiente". Consulte a Secção 18, Guia de resolução de problemas.

Exemplo: O limiar de ciclo (Ct) da mutação em NPM1 do teste = 5,4 é superior a "0" e inferior a "6"; limiar de ciclo (Ct) de ABL = 5,9 é inferior a "6".

Resultado (Result): **INVÁLIDO (INVALID) [Transcrito NPM1 Mutation e ABL demasiado elevado].** Ver Figura 8.

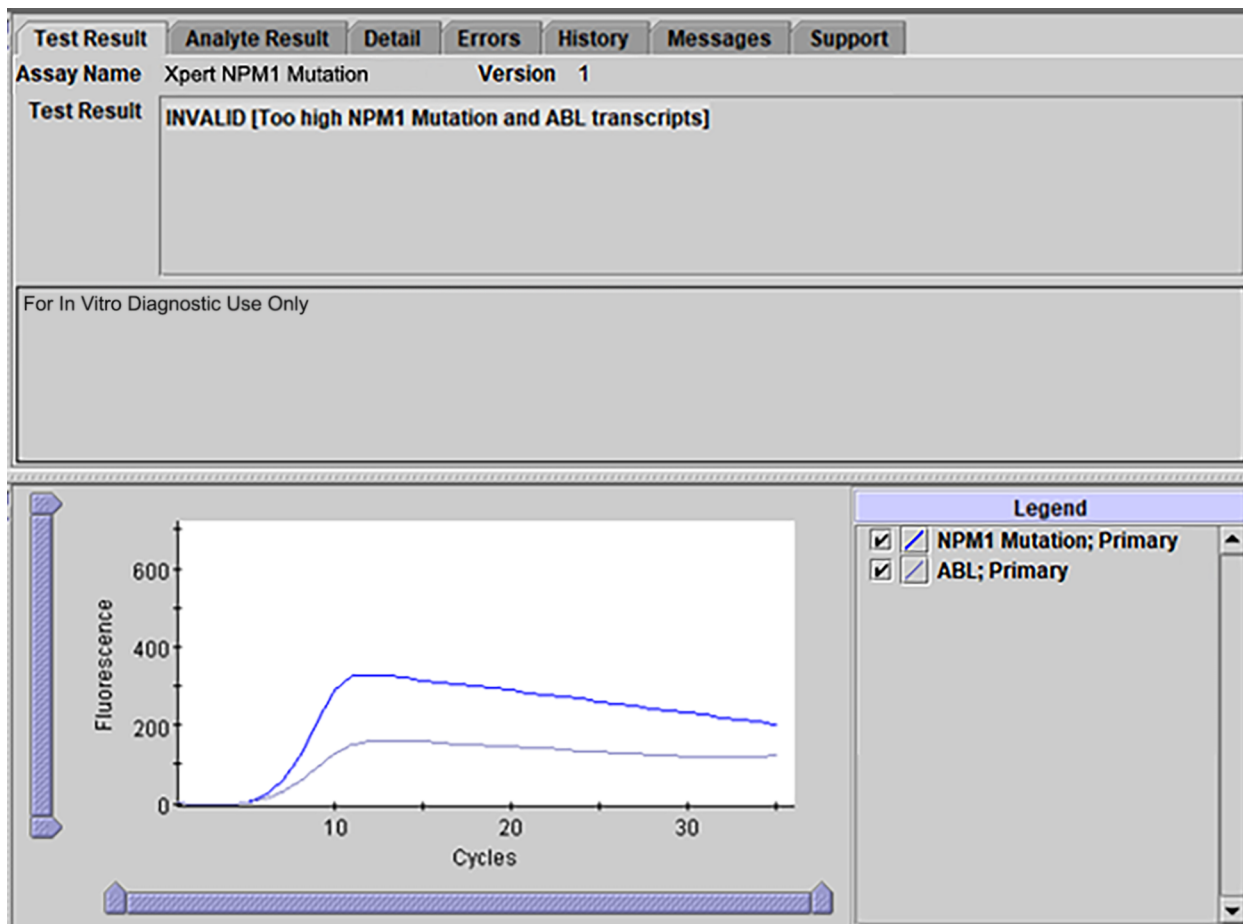


Figura 8. Janela Ver resultados (View Results) do GeneXpert Dx: INVÁLIDO (INVALID) [Transcrito NPM1 Mutation e ABL muito elevado]

16.8 INVÁLIDO (INVALID) [Transcrito NPM1 Mutation demasiado elevado]

A mutação em NPM1 foi detetada com o limiar de ciclo (Ct) da mutação em NPM1 superior a "0" e inferior a "6" e o limiar de ciclo (Ct) de ABL superior a "6" e inferior ou igual a "20".

O software GeneXpert exige que o limiar de ciclo (Ct) de ABL seja superior ou igual a "6" e inferior ou igual a "20" para o teste Xpert NPM1 Mutation garantir que haja "transcrito ABL suficiente". Consulte a Secção 18, Guia de resolução de problemas.

Exemplo: O limiar de ciclo (Ct) da mutação em NPM1 do teste = 5,8 é superior a "0" e inferior a "6"; limiar de ciclo (Ct) de ABL = 13 situa-se entre "6" e "20".

Resultado (Result): **INVÁLIDO (INVALID) [Transcrito NPM1 Mutation demasiado elevado]**. Ver Figura 9.

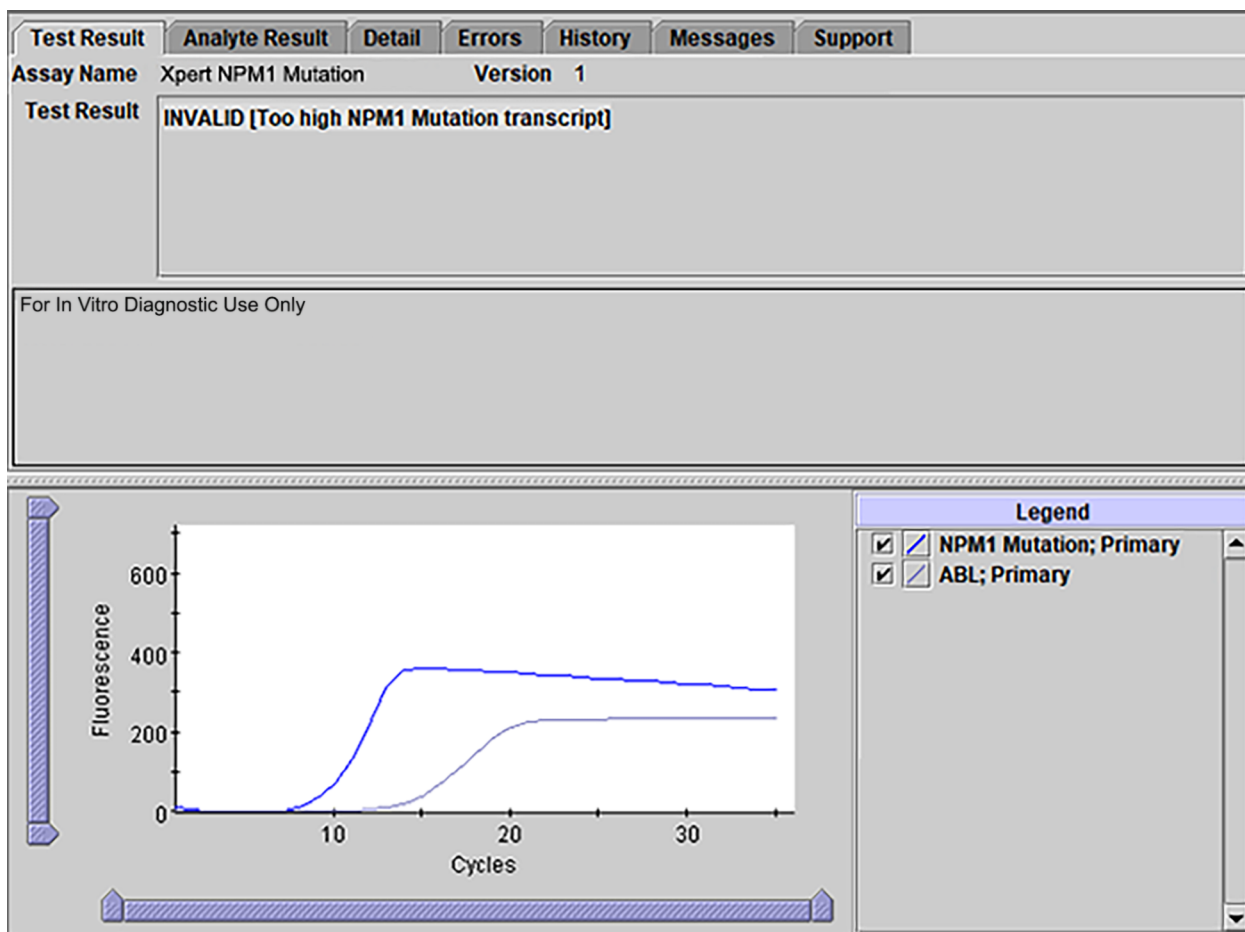


Figura 9. Janela Ver resultados do GeneXpert: INVÁLIDO (INVALID) [Transcrito NPM1 Mutation demasiado elevado]

16.9 INVÁLIDO [Transcrito de mutação em ABL demasiado elevado] (INVALID [Too high ABL transcript])

A mutação em NPM1 foi detetada com o limiar de ciclo (Ct) da mutação em NPM1 superior a "6" e inferior ou igual a "32" e o limiar de ciclo (Ct) de ABL não igual a "0" e inferior a "6".

O software GeneXpert exige que o limiar de ciclo (Ct) de ABL seja superior ou igual a "6" e inferior ou igual a "20" para o teste Xpert NPM1 Mutation garantir que haja "transcrito ABL suficiente". Consulte a Secção 18, Guia de resolução de problemas.

Exemplo: Limiar de ciclo (Ct) da mutação em NPM1 do teste = 13,2; Limiar de ciclo (Ct) de ABL = 5,8 é inferior a "6".

Resultado (Result): **INVÁLIDO [Transcrito ABL demasiado elevado] (INVALID [Too high ABL transcript]).**
Ver Figura 10.

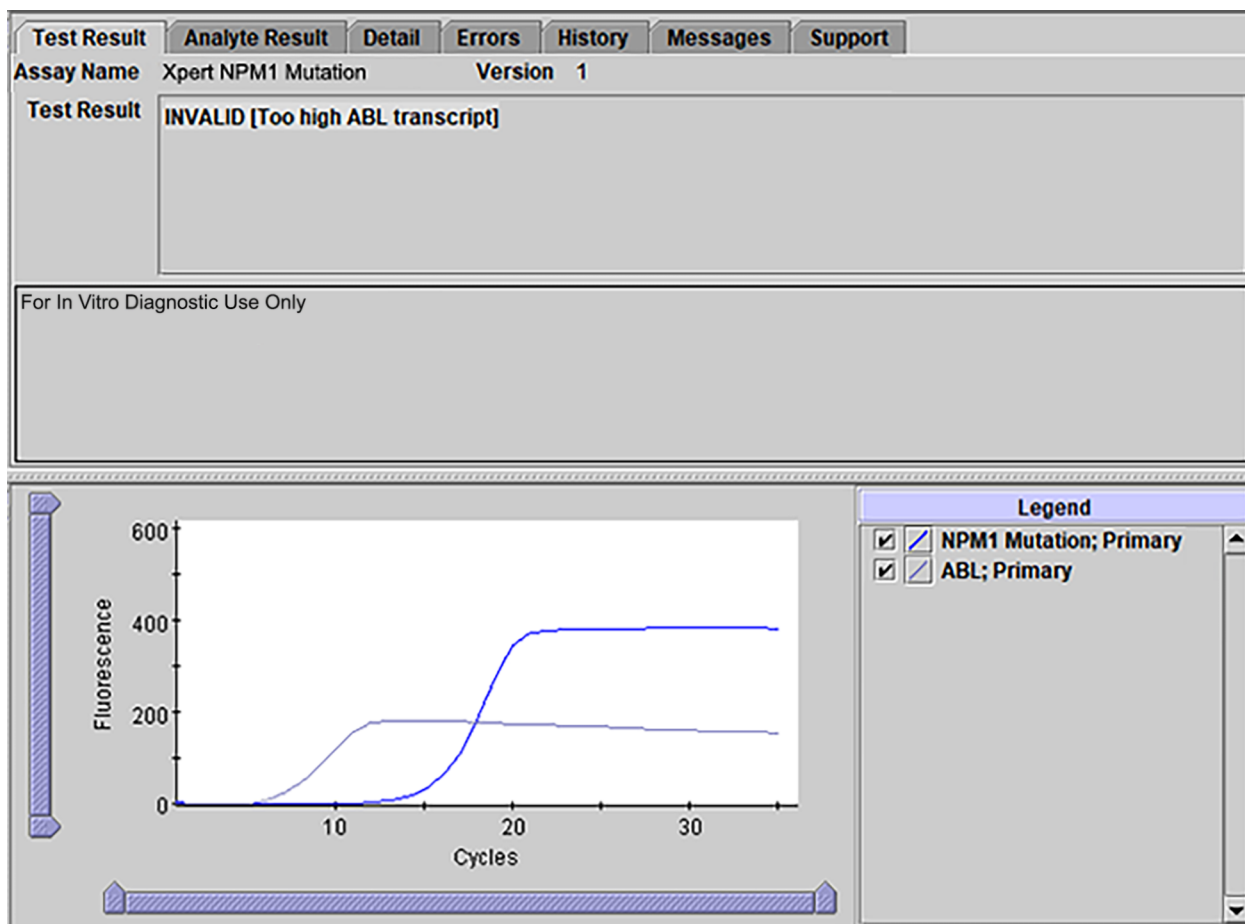


Figura 10. Janela Ver resultados do GeneXpert: INVÁLIDO [Transcrito ABL demasiado elevado] (INVALID [Too high ABL transcript])

16.10 ERRO (ERROR)

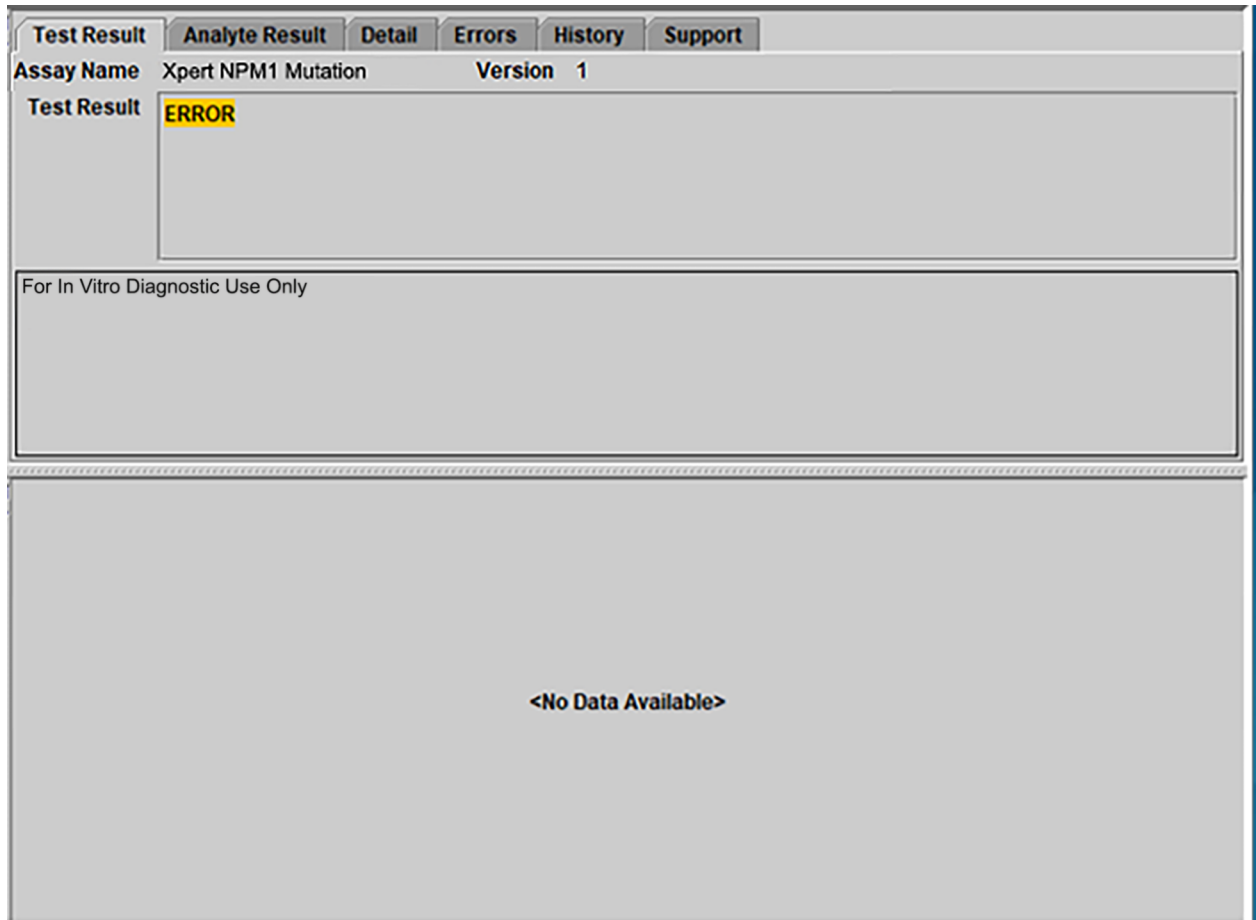


Figura 11. Janela Ver resultados do GeneXpert: ERRO (ERROR)

17 Limitações do teste

- O teste não se destina a utilização com calibradores externos.
- Qualquer modificação destes procedimentos pode alterar o funcionamento do teste.
- Este produto foi concebido para utilização com sangue colhido apenas em tubos com EDTA.
- Não utilizar a heparina como anticoagulante, porque pode inibir a reação de PCR.
- Os tipos de amostra de citrato de sódio, camada leuco-plaquetária e de medula óssea não foram validados.
- Podem ocorrer resultados de teste erróneos devido a incorreções na colheita, no manuseamento ou na conservação das amostras ou devido a troca de amostras. Para se evitarem resultados erróneos, é necessário cumprir cuidadosamente as instruções de utilização.
- Mutações ou polimorfismos nas regiões de ligação do primer ou da sonda podem afetar a deteção de variantes novas ou desconhecidas e podem originar um resultado falso negativo.
- Contagens de glóbulos brancos excessivamente elevadas podem causar a acumulação de pressão no cartucho e originar a interrupção das execuções ou resultados inexatos.
- Algumas amostras com níveis muito baixos de transcritos de ABL ou contagens de glóbulos brancos inferiores a 150 000 células/ml podem ser apresentadas com resultado **INVÁLIDO (INVALID)** (Tipo 1). Um resultado indeterminado não exclui a presença de níveis muito baixos de células leucémicas na amostra.

18 Guia de resolução de problemas

Tabela 3. Guia de resolução de problemas

Resultado do teste	Causas possíveis	Sugestões
INVÁLIDO (INVALID)	<p>Tipo 1: Falha do controlo endógeno ABL:</p> <ul style="list-style-type: none"> Má qualidade da amostra Inibição da RT-PCR ABL Ct > 20 e/ou endpoint (ponto final) < 100 	<ul style="list-style-type: none"> Verifique a qualidade da amostra (p. ex., requisitos de conservação das amostras não cumpridos, incluindo tempo e temperatura). Repita o teste com a amostra original (se disponível) ou a partir do lisado conservado e um novo cartucho de acordo com o procedimento descrito na Secção 19.1, Procedimento de repetição do teste em caso de ERRO (ERROR) ou resultado INVÁLIDO (INVALID) (Tipo 1).
	<p>Tipo 2: Não é possível determinar o nível de transcrito da mutação em NPM1 porque a amostra contém transcritos da mutação em NPM1 e/ou ABL em excesso (Ct < 6)</p>	<p>Repita o teste com a amostra original (se disponível) ou a partir do lisado conservado e com um novo cartucho de acordo com o procedimento descrito na Secção 19.2, Procedimento de repetição do teste em caso de ERRO (ERROR) (Código 2008) ou resultado INVÁLIDO (INVALID) (Tipo 2).</p>
ERRO (Código 2008) [ERROR (Code 2008)]	<p>Pressão excedeu o limite (Pressure exceeding limit) (mensagem de erro 2008)</p>	<ul style="list-style-type: none"> Verifique a qualidade da amostra Verifique se existe uma contagem de WBC excessivamente elevada Repita o teste com a amostra original (se disponível) ou a partir do lisado conservado e com um novo cartucho de acordo com o procedimento descrito na Secção 19.2, Procedimento de repetição do teste em caso de ERRO (ERROR) (Código 2008) ou resultado INVÁLIDO (INVALID) (Tipo 2).
<p>ERRO (Códigos 5006, 5007, 5008 e 5009*) [ERROR (Code 5006, 5007, 5008, e 5009*)]</p> <p>*Não se trata de uma lista de códigos de ERRO (ERROR) exaustiva.</p>	<p>Falha de verificação da sonda</p>	<p>Repita o teste com a amostra original (se disponível) ou a partir do lisado conservado e com um novo cartucho de acordo com o procedimento descrito na Secção 19.1, Procedimento de repetição do teste em caso de ERRO (ERROR) ou resultado INVÁLIDO (INVALID) (Tipo 1).</p>
SEM RESULTADO (NO RESULT)	<p>Falha de recolha de dados. Por exemplo, o operador parou um teste que estava em curso ou a alimentação elétrica falhou.</p>	<p>Repita o teste com a amostra original (se disponível) ou a partir do lisado conservado e com um novo cartucho de acordo com o procedimento descrito na Secção 19.1, Procedimento de repetição do teste em caso de ERRO (ERROR) ou resultado INVÁLIDO (INVALID) (Tipo 1).</p>

19 Repetição de um teste

19.1 Procedimento de repetição de teste no caso de ERRO (ERROR) ou resultado INVÁLIDO (INVALID) (Tipo 1)

Repita o teste das amostras com **ERRO (ERROR)** ou resultado **INVÁLIDO (INVALID)** por o limiar de ciclo (Ct) do ABL ter excedido o valor máximo válido para o limiar de ciclo (Ct > 20) ou o endpoint (ponto final) estar abaixo do limiar definido (< 100). Consulte também a Secção 18, Guia de resolução de problemas.

1. Se estiver disponível um volume da amostra de sangue suficiente, repita o teste a partir do tubo de colheita da amostra de sangue original de acordo com o procedimento descrito na Secção 12.2.

OU

Se o volume da amostra de sangue for insuficiente, a repetição do teste pode ser efetuada com o lisado conservado na Secção 12.2.1, passo 12.

- a. Se o lisado conservado da Secção 12.2.1, passo 12, estiver congelado, descongele-o à temperatura ambiente antes de utilizar.
 - b. Certifique-se de que o lisado está bem misturado agitando continuamente a amostra com um agitador de vórtex na definição máxima durante 10 segundos e deixando repousar durante 3 minutos para assentar as bolhas.
2. Transfira 1 ml do lisado preparado para um novo tubo cónico de 50 ml.
 3. Siga os passos 13-17 na Secção 12.2.1 para obter o lisado final.
 4. Abra o cartucho levantando a tampa e transfira todo o conteúdo de uma (1) ampola do reagente de lavagem para a câmara do reagente de lavagem (com a abertura pequena). Ver Figura 1.
 5. Pipete a totalidade da amostra preparada para a câmara de amostra (abertura grande). Ver Figura 1.
 6. Feche a tampa do cartucho. Iniciar teste (ver Secção 12.4, Iniciar o teste).

19.2 Procedimento de repetição de teste para ERRO (Código 2008) [ERROR (Code 2008)] ou resultado INVÁLIDO (INVALID) (Tipo 2)

Repita o teste das amostras com níveis de transcrito da mutação em NPM1 e /ou ABL abaixo do limiar de ciclo (Ct) mínimo válido (Ct > 0 e Ct < 6) e/ou quando o limite de pressão é excedido. Consulte também a Secção 18, Guia de resolução de problemas.

1. No fundo de um tubo cónico de 50 ml novo adicione 100 µl de PK (Proteinase K).
2. Assegure-se de que a amostra de sangue ou o lisado restante da Secção 12.2, passo 12 é bem misturada, invertendo 8 vezes o tubo de colheita imediatamente antes da pipetagem.
3. Ao tubo que já contém proteinase K, adicione 250 µl de amostra de sangue e 3,75 ml de PBS (pH 7.4, fornecido pelo utilizador), se disponível, ou 60 µl de lisado conservado da Secção 12.2.1, passo 12.
 - a. Se o lisado conservado da Secção 12.2.1, passo 12, estiver congelado, descongele-o à temperatura ambiente antes de utilizar.
 - b. Certifique-se de que o lisado está bem misturado agitando continuamente a amostra com um agitador de vórtex na definição máxima durante 10 segundos e deixando repousar durante 3 minutos para assentar as bolhas.
4. Agite a amostra em vórtex continuamente à velocidade máxima durante 3 segundos.
5. Incube à temperatura ambiente durante 1 minuto.
6. Para a repetição do teste da amostra de sangue com PBS, siga os passos 6-17 na Secção 12.2.1, para obter o lisado final. Para a repetição do teste do lisado conservado, siga os passos a-g abaixo para obter o lisado final.
 - a. Ao tubo com a repetição do teste de lisado conservado, adicione 2,5 ml de LY.
 - b. Agite a amostra em vórtex continuamente à velocidade máxima durante 10 segundos.
 - c. Incube à temperatura ambiente durante 5 minutos.
 - d. Agite a amostra em vórtex continuamente à velocidade máxima durante 10 segundos.
 - e. Incube à temperatura ambiente durante 5 minutos.
 - f. Ao mesmo tubo adicione 2 ml de etanol absoluto grau reagente (fornecido pelo utilizador)
 - g. Agite a amostra em vórtex continuamente à velocidade máxima durante 10 segundos. Ponha de parte.
7. Abra o cartucho levantando a tampa e transfira todo o conteúdo de uma (1) ampola do reagente de lavagem para a câmara do reagente de lavagem (com a abertura pequena). Ver Figura 1.
8. Pipete a totalidade da amostra preparada para a câmara de amostra (abertura grande). Ver Figura 1.

9. Feche a tampa do cartucho. Iniciar teste (ver Secção 12.4, Iniciar o teste).

20 Valores esperados

O intervalo Xpert NPM1 Mutation abrange importantes pontos de decisão clínica para monitorização da AML. Os valores esperados são expressos sob a forma de rácio percentual de ARNm da mutação em NPM1 para o ARNm de ABL e intervalo entre 0,030% e 500%. As medições abaixo deste intervalo são apresentadas como não detetadas ou abaixo do limite de deteção (LoD). As medições acima deste intervalo são apresentadas como acima do limite de quantificação (LoQ). Consulte mais pormenores na Secção 15.

21 Desempenho clínico

Foi realizado um estudo de comparação de métodos observacionais multicêntrico em três locais nos Estados Unidos da América e num local fora dos Estados Unidos da América. Foram inscritas no estudo amostras de 40 doentes isolados com AML com mutação do NPM1 a partir de um ponto temporal e em todo o intervalo dinâmico do teste Xpert NPM1 Mutation. A idade e o sexo foram recolhidos para os doentes dos quais as amostras foram obtidas. A distribuição por sexo foi de 11 homens (27,5%) e 29 mulheres (72,5%). Todas as amostras pertenciam a doentes entre os 16 e os 81 anos de idade, com idade média de 59,7 anos.

Todas as 40 amostras apresentaram resultados de teste válidos. Trinta e seis das 40 amostras apresentaram resultados dentro dos intervalos quantitativos de ambos os testes. Quatro amostras foram excluídas da regressão de Deming, visto que as amostras foram negativas no teste Xpert NPM1 Mutation e/ou no comparador. Uma amostra adicional foi excluída porque era um valor atípico. No total, 35 amostras foram incluídas na análise da regressão de Deming.

O desempenho do teste Xpert NPM1 Mutation versus o teste comparador foi avaliado utilizando uma regressão de Deming para determinar o declive e a ordenada. A Figura 12 apresenta os resultados da análise da regressão de Deming que inclui o declive, a ordenada, e a linha de identidade nas 35 amostras. Os limites de confiança de 95% foram calculados utilizando o método “jackknife” e é exibido o coeficiente de correlação de Pearson.

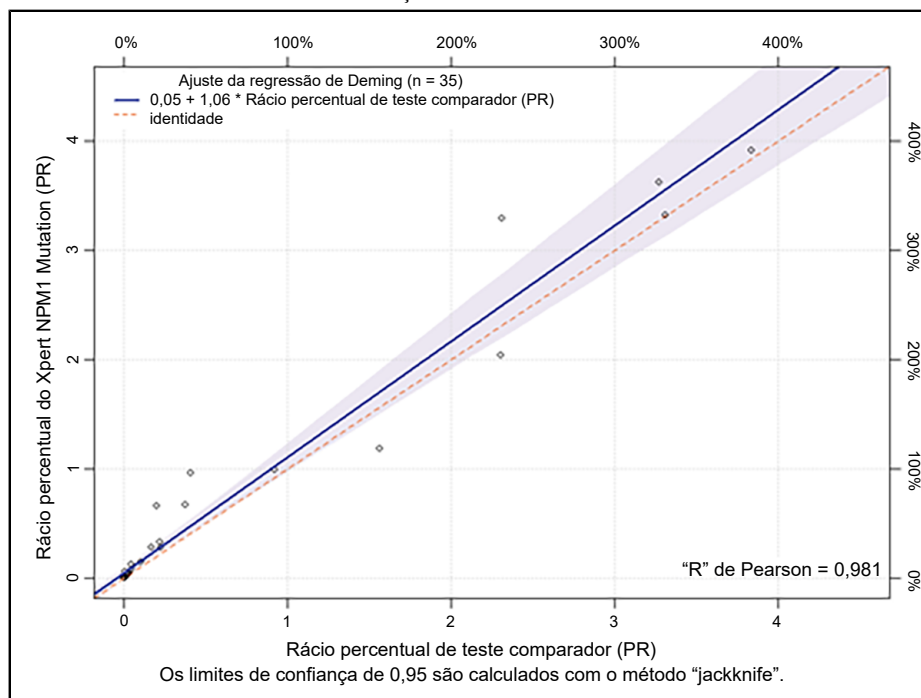


Figura 12. Regressão de Deming para rácio percentual

O declive e a ordenada para o rácio percentual da análise da regressão de Deming foram de 1,06 e 0,05, respetivamente, e a correlação de Pearson foi de 0,981 entre as medições do teste Xpert NPM1 Mutation e do teste comparador.

Foi avaliada uma análise de Bland-Altman para a diferença no rácio percentual para as 35 amostras com resultados quantitativos que se situavam dentro do intervalo linear do teste Xpert NPM1 Mutation e do teste comparador. A Figura 13 mostra o gráfico de Bland-Altman com a diferença no rácio percentual entre os dois testes versus os resultados médios do rácio percentual para cada amostra. O gráfico mostra também os dois desvios-padrão (2SD) superior e inferior da diferença média que foi observada no estudo.

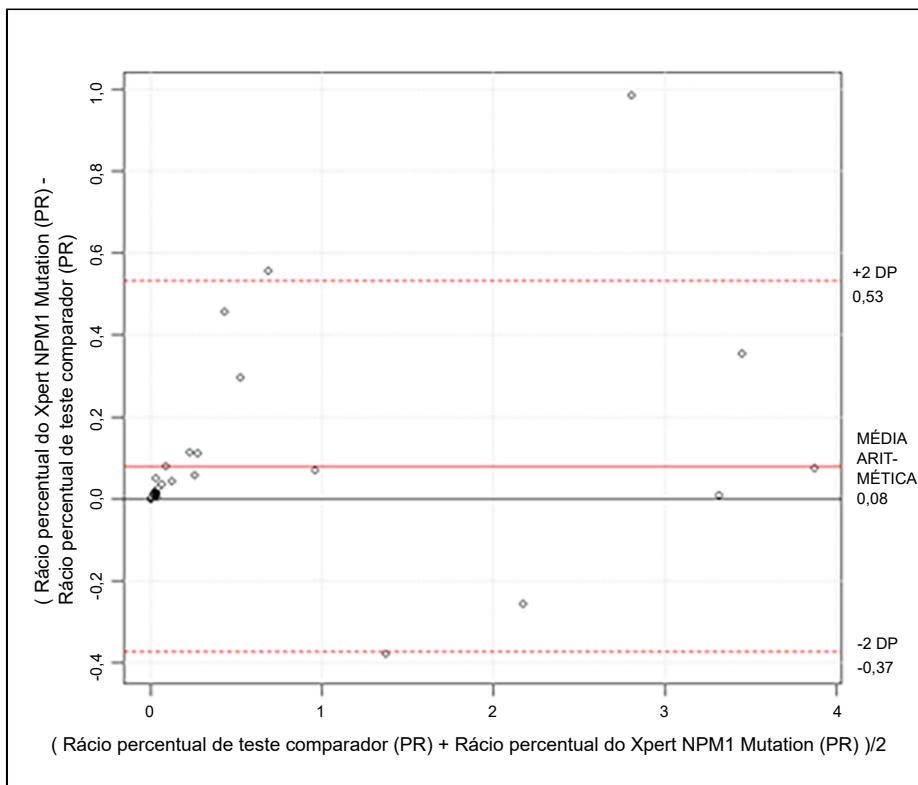


Figura 13. Gráfico de Bland-Altman para o rácio percentual do teste Xpert NPM1 Mutation & do comparador

A diferença média foi de 0,08 no rácio percentual entre o resultado do teste Xpert NPM1 Mutation e do comparador. A maior parte (91,4%, 32/35) dos resultados situava-se dentro dos dois desvios-padrão da diferença média.

22 Dados analíticos

22.1 Linearidade/Intervalo dinâmico

A linearidade foi determinada para cada um dos três subtipos de NPM1 mutante, mutA, mutB e mutD, utilizando lisados de células que contêm níveis elevados de cada transcrito de subtipo. Esses lisados foram diluídos num lisado de fundo preparado a partir de dados presumivelmente negativos para a mutação em NPM1 para intervalos alvo de ~0,01–2500% da mutação em NPM1/ABL. Todos os níveis foram testados num lote de reagente em quadruplicado. Os testes e as análises estatísticas foram realizados de acordo com a norma CLSI EP06-A⁹. As curvas de regressão para cada subtipo são apresentadas na Figura 14, Figura 15, e na Figura 16. O intervalo linear de cada subtipo e os seus coeficientes de regressão do modelo linear encontram-se resumidos na Tabela 4.

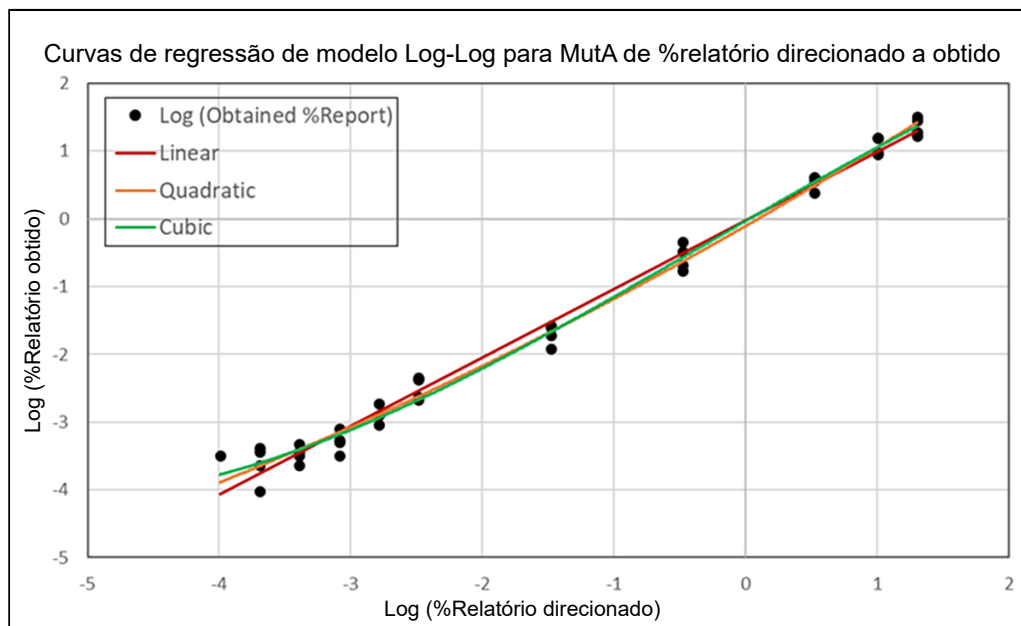


Figura 14. Curvas de regressão para mutA

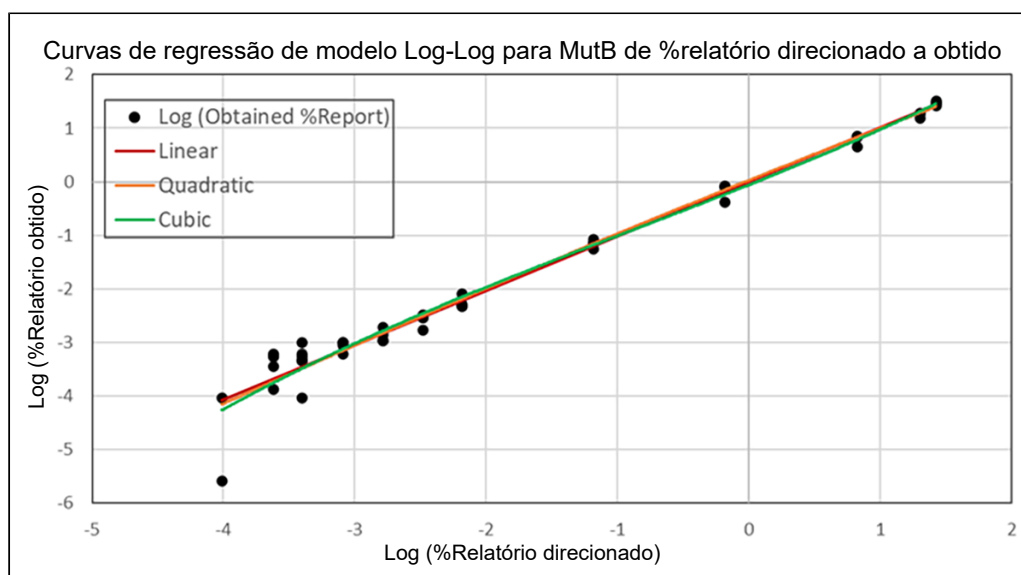


Figura 15. Curvas de regressão para mutB

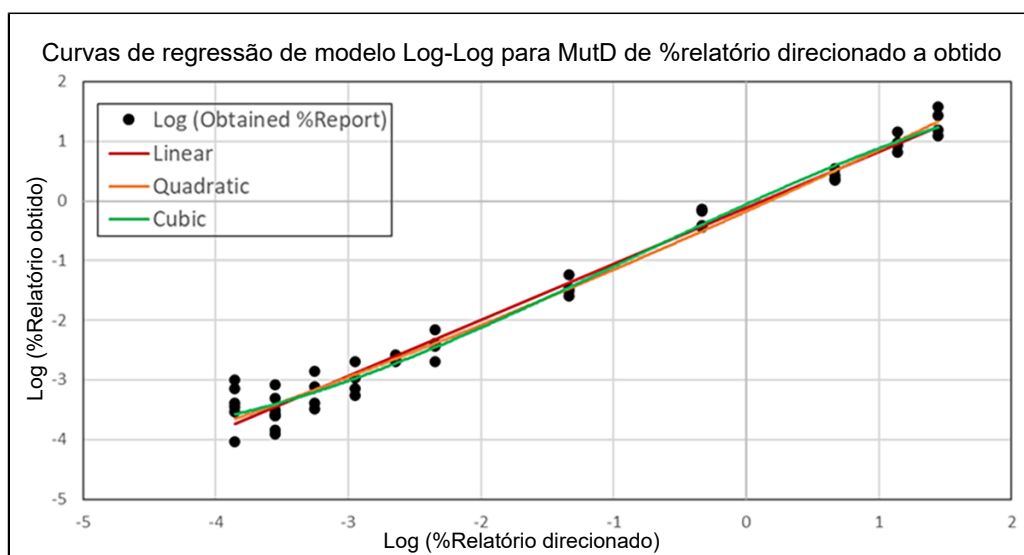


Figura 16. Curvas de regressão para mutD

Tabela 4. Resumo de intervalos lineares e coeficientes do modelo linear

Subtipo	Intervalo linear	Ordenada	Declive	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

Coletivamente, o teste Xpert NPM1 Mutation demonstrou linearidade dentro de 0,014–2020% da mutação em NPM1/ABL. Limitado pelo LoQ e pelo limite superior do software, o intervalo dinâmico reportável é de 0,030–500%.

22.2 Sensibilidade analítica (limite de detecção, limite de quantificação, limite do branco)

O limite de detecção (LoD) é o nível mais baixo da mutação em NPM1/ABL no qual 95% das amostras são consistentemente notificadas como “NPM1 Mutation DETETADO [##,##%] (NPM1 Mutation DETECTED [##.##%])”. O LoD foi determinado para os subtipos mutA, mutB, e mutD individualmente, testando diluições em série de lisados de células positivas para mutação em NPM1 e lisados clínicos portadores de cada subtipo de mutação. Os LoD correspondentes foram estimados e verificados em conformidade com a norma CLSI EP17-A2¹⁰. As análises resultantes apresentaram um LoD de 0,025% para mutA, 0,023% para mutB, e 0,030% para mutD (Tabela 5). O LoD mais elevado entre os três subtipos a 0,030% é considerado como o LoD global do teste Xpert NPM1 Mutation.

O limite de quantificação (LoQ) é o nível mais baixo da mutação em NPM1/ABL acima do qual as amostras podem ser quantificadas com um desvio-padrão da redução logarítmica $\leq 0,36$ (LR) para reduções logarítmicas médias acima de 3,5. Em conformidade com a norma CLSI EP17-A2¹⁰, os LoQ foram estimados e verificados a 0,025% para o subtipo mutA, a 0,023% para o subtipo mutB, e a 0,030% para o subtipo mutD (Tabela 5). O LoQ mais elevado entre os três subtipos a 0,030% é considerado como o LoQ global do teste Xpert NPM1 Mutation.

O limite do branco (LoB) é o resultado mais elevado da mutação em NPM1/ABL esperado entre 95% das amostras de branco de dadores presumivelmente negativos para a mutação em NPM1. Em conformidade com a norma CLSI EP17-A2¹⁰, o LoB do teste Xpert NPM1 Mutation foi estimado e verificado a 0,0085% (Tabela 5).

Tabela 5. Limite de detecção, Limite de quantificação, e Limite de branco do teste Xpert NPM1 Mutation [% NPM1 Mutation/ABL]

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

22.3 Especificidade analítica

A especificidade analítica do teste Xpert NPM1 Mutation foi determinada através de testes de amostras de sangue periférico tratadas com EDTA provenientes de vinte e cinco doadores saudáveis.

Não foram obtidos resultados NPM1 Mutation **DETETADO** (NPM1 Mutation DETECTED) de qualquer das amostras presumivelmente negativas para a mutação em NPM1 avaliadas neste estudo. Desse modo, o teste Xpert NPM1 Mutation é específico para os transcritos de ARNm do NPM1 mutante (tipos A, B e D no exão 12) associados à AML e tem especificidade analítica de 100% para amostras de sangue periférico com EDTA.

22.4 Avaliação da contaminação por transferência

Foi realizado um estudo para demonstrar que os cartuchos GeneXpert autônomos, de utilização única, impedem a contaminação por transferência (carry-over) em cartuchos executados sucessivamente no mesmo módulo do instrumento. Foi testada uma amostra presumivelmente negativa para mutação em NPM1 no seguimento de uma amostra positiva elevada para mutação em NPM1 no mesmo módulo GeneXpert. O esquema de testes foi repetido 10 vezes em dois módulos GeneXpert (22 negativos e 20 positivos no total). Todas as execuções da amostra positiva devolveram o resultado esperado de “**NPM1 Mutation DETETADO [#,##%] (NPM1 Mutation DETECTED [#,##%])**”, e todas as execuções das amostras negativas devolveram o resultado esperado de “**NPM1 Mutation NÃO DETETADO [Transcrito de ABL suficiente] (NPM1 Mutation NOT DETECTED [Sufficient ABL transcript])**”.

22.5 Substâncias potencialmente interferentes

Este estudo avaliou cinco substâncias que podem estar presentes em amostras de sangue periférico em EDTA com o potencial para interferir com o desempenho do teste. Os compostos e níveis testados (ver Tabela 6) basearam-se nas orientações da norma CLSI EP07-ED3¹¹. As substâncias interferentes foram testadas em amostras de sangue periférico em EDTA manipuladas com lisados de células de cultura positivas para mutação em NPM1, representando três níveis: > 1%, 0,1–0,5%, e negativo. Os controlos do teste consistiram nas mesmas amostras sem as substâncias potencialmente interferentes. Cada nível foi testado na ausência e na presença das cinco substâncias interferentes individuais a 4 réplicas por condição. Uma substância foi considerada como não interferente se, na sua presença, a média do rácio percentual observada esteve dentro do intervalo de diferença 3 vezes superior em comparação com o controlo.

Não foram observados efeitos inibitórios clinicamente significativos no Xpert NPM1 Mutation com quaisquer substâncias interferentes avaliadas neste estudo. Não foram observadas diferenças estatisticamente significativas (valor $p < 0,05$) em algumas condições de teste e os rácios percentuais apresentados entre as condições de teste e controlo estavam dentro do intervalo aceitável 3 vezes superior.

Tabela 6. Substâncias que podem interferir testadas utilizando o Xpert NPM1 Mutation

Substâncias que interferem	Concentração testada
Bilirrubina não conjugada	20 mg/dl
Colesterol, total	500 mg/dl
Triglicéridos, total (Lípidos)	3000 mg/dl
Heparina	3500 U/l
EDTA (colheita breve)	930 mg/dl

23 Reprodutibilidade e precisão

O estudo foi concebido em conformidade com os princípios gerais expostos na norma CLSI EP05-A3 para estudos multifatores. Foi realizado em três locais. A conceção do estudo incorporou membros do painel de amostra que incluíram as mutações A, B e D em duas concentrações. Sete membros de painel foram testados em duplicado, duas execuções por dia, para um total de 6 dias por cada um dos dois operadores em três locais diferentes (3 locais × 2 operadores × 3 lotes × 2 dias × 2 execuções × 2 réplicas = 144 resultados de teste/membro do painel). Os painéis de reprodutibilidade e precisão foram preparados pela Cepheid e consistem em sete membros do painel como mostrado na Tabela 7. Os painéis foram manipulados numa matriz simulada de sangue periférico (PB) em EDTA.

Tabela 7. Painéis de reprodutibilidade e precisão

Membro do painel	Alvo	Nível de rácio percentual (PR)
1	Negativo	NA
2	Mutação A em NPM1	Positivo moderado (~5%)
3	Mutação A em NPM1	Baixo Positivo (~0,2%)
4	Mutação B em NPM1	Positivo moderado (~5%)
5	Mutação B em NPM1	Baixo Positivo (~0,2%)
6	Mutação D em NPM1	Positivo moderado (~5%)
7	Mutação D em NPM1	Baixo Positivo (~0,2%)

O número de amostras com resultados válidos para cada membro do painel analisado por cada um dos dois operadores em três locais é mostrado na Tabela 8.

Tabela 8. Reprodutibilidade e precisão: Número de amostras com resultados válidos

Membro do painel		Local 1			Local 2			Local 3			Total de amostras
		Op. 1	Op. 2	Local	Op. 1	Op. 2	Local	Op. 1	Op. 2	Local	
1	Negativo	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 (rácio de ~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 (rácio de ~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 (rácio de ~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 (rácio de ~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 (rácio de ~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 (rácio de ~0,2%)	(24/24)	(24/24)	(48/48)	(24/24) ^c	(24/24)	(48/48) ^c	(24/24)	(24/24)	(48/48)	(144/144)

^a Duas amostras negativas tinham resultados válidos mas detetados (FP)

^b Uma amostra negativa tinha resultados válidos mas detetados (FP)

^c Uma amostra LR 2.7: mut D (rácio de ~0,2%) tinha um resultado válido mas não detetado (FN)

Os resultados quantitativos foram analisados pela análise de variância “nested” (ANOVA) com efeitos aleatórios e o coeficiente de variação (CV). Os resultados dos cálculos da ANOVA para desvio padrão e variância para cada amostra positiva são fornecidos na Tabela 9. A variância e a percentagem da variância total contribuída por cada componente (local/instrumento, operador, lote, dia, execução) estão indicadas como DP e contribuição percentual de cada componente.

Tabela 9. Resultados do coeficiente de variação (CV): Rácio percentual (PR)

Membro do painel	N	Média aritmética	Local		Op.		Lote		Dia		Execução		Intraensaio		Total	
			DP	CV (%)	DP	CV (%)	DP	CV (%)	DP	CV (%)	DP	CV (%)	DP	CV (%)	DP	CV (%)
LR1.3: mut A (rácio de ~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 (rácio de ~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 (rácio de ~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 (rácio de ~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 (rácio de ~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 (rácio de ~0,2%)	143 ^a	0,2%	0,00	10,86	0,00	0,00	0,00	12,91	0,00	6,77	0,00	0,00	0,00	22,83	0,00	29,18

^a Uma amostra não foi detetada por Xpert NPM1 e foi excluída da análise porque não houve medição quantitativa.

A percentagem do coeficiente de variação total (CV) do rácio percentual que comunica valores quantitativos para as amostras positivas moderadas LR1.3: mut A, mut B e mut D (rácio de ~5%) variou de 21,74 a 26,23 e para as amostras positivas baixas LR2.7: mut A, mut B e mut D (rácio de ~0,2%) variou de 20,68 a 79,22.

24 Referências

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>. Acedido em 16 de setembro de 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 (consultar a última edição). <http://www.cdc.gov/biosafety/publications/>
7. Clinical and Laboratory Standards Institute. Protection of Laboratory Workers from Occupationally Acquired Infections; Approved Guideline. Document M29 (consultar a edição mais recente).
8. Health-care Waste. Organização Mundial da Saúde. <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 Locais das sedes da Cepheid

Sede empresarial

Cepheid
904 Caribbean Drive
Sunnyvale, CA 94089
USA

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

Sede europeia

Cepheid Europe SAS
Vira Solelh
81470 Maurens-Scopont
France

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

26 Assistência técnica

Antes de contactar a assistência técnica da Cepheid, reúna as seguintes informações:

- Nome do produto
- Número de lote
- Número de série do instrumento
- Mensagens de erro (se houver alguma)
- Versão de software e, caso se aplique, número de Etiqueta de serviço (Service Tag) do computador

Estados Unidos da América

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





















França

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

As informações de contacto de todos os escritórios da assistência técnica da Cepheid estão disponíveis no nosso website: www.cepheid.com/en_US/support/contact-us.

Termos e Condições da Cepheid podem ser encontrados em www.cepheid.com/en/support/support/order-management.

27 Tabela de símbolos

Símbolo	Significado
	Número de catálogo
	Marcação CE — Conformidade Europeia
	Dispositivo médico para diagnóstico <i>in vitro</i>
	Código de lote
	Não reutilizar
	Consultar as instruções de utilização
	Fabricante
	País de fabrico
	Conteúdo suficiente para n testes
	Controlo
	Prazo de validade
	Limites de temperatura
	Riscos biológicos
	Cuidado
	Líquidos inflamáveis
	Toxicidade relacionada com a reprodução e os órgãos
	Atenção
	Mandatário na Comunidade Europeia
	Mandatário na Suíça
	Importador



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



Cepheid Europe SAS
Vira Solelh
81470 Maurens-Scopont
França
Telefone: + 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 Histórico de revisões

Secção	Descrição da alteração
23	Correção de um erro na secção "Reprodutibilidade e precisão".