

Szkolenie techniczne dotyczące testu Xpert[®] NPM1 Mutation

Numer katalogowy (GXNPM1-CE-10)

Wyłącznie do CE-IVD



Cele szkolenia

Po zakończeniu szkolenia użytkownicy będą w stanie:

- Prawidłowo przechowywać i obsługiwać zestawy kartridża testu Xpert® NPM1 Mutation
- Postępować zgodnie z należytym iśrodkami ostrożnościobowiązującymi w laboratorium
- Pobierać i transportować odpowiednio próbki
- Przygotowywać kartridż i wykonywać test Xpert® NPM1 Mutation
- Zgłaszać różne wyniki generowane przez oprogramowanie
- Rozumieć strategię kontroli testu Xpert® NPM1 Mutation

Plan szkolenia

- 1 Informacje ogólne
- 2 Obsługa zestawu
- 3 Pobieranie próbek
- 4 Przygotowanie kartridża
- 5 Kontrole jakości
- 6 Interpretacja wyników
- 7 Rozwiązywanie problemów



Informacje ogólne

Rozwiązanie firmy Cepheid



- Wykrywanie ilościowe
- Zintegrowane kontrole wewnętrzne dla każdej próbki
 - Kontrola sondy (PCC)
 - Kontrola endogenna — gen ABL
- Wyniki w mniej niż 3 godziny
- Około 30 minut na przygotowywanie próbki oraz **mniej niż 2,5 godziny na wykonanie testu**
- System zamkniętego kartridża minimalizuje ryzyko zanieczyszczenia
- Wyniki na żądanie
- Dostęp swobodny

Przeznaczenie

- Test Xpert® NPM1 Mutation, wykonywany w systemie Cepheid GeneXpert® Dx System, to test diagnostyczny *in vitro* przeznaczony do ilościowej analizy transkryptów mRNA zmutowanego genu NPM1 (typy A, B i D w eksonie 12) w próbkach krwi obwodowej pobranych od pacjentów z ostrą białaczką szpikową (AML).
- Test wykorzystuje zautomatyzowaną reakcję łańcuchową polimerazy z odwrotną transkrypcją (RT-PCR) w czasie rzeczywistym i zgłasza w spójnym procentowy zmutowanego NPM1 względem transkryptów mRNA kontroli endogennej ABL1.
- Test jest przeznaczony do stosowania jako pomoc w monitorowaniu pacjentów cierpiących na AML ze zmutowanym genem NPM1 pod kątem poziomu transkryptów mRNA zmutowanego genu NPM1. Wyniki tego testu należy wykorzystywać w połączeniu z innymi czynnikami i kliniczno-patologicznymi.
- Test Xpert® NPM1 Mutation nie umożliwia rozróżnienia między transkryptami zmutowanego genu NPM1 typu A, B lub D, a także nie wykrywa ani nie monitoruje innych rzadkich typów mutacji w genie NPM1.
- Ten test nie jest przeznaczony do diagnozy AML.

Użytkownik docelowy / środowisko

- Test Xpert® NPM1 Mutation jest przeznaczony do wykonywania przez przeszkolonych użytkowników pracujących w środowisku laboratoryjnym.

Sekwencje docelowe

- Transkrypty mRNA zmutowanego genu NPM1 typu A, B i D w eksonie 12
- Kontrola endogenna — gen ABL1

Wymagania dotyczące testu Xpert® NPM1 Mutation

Systemy GeneXpert®

- Oprogramowanie GeneXpert Dx w **wer. 6.2** lub nowszej

Zestawy testowe

- Numer katalogowy (GXNPM1-CE-10)

Pobieranie próbek

- Krew obwodowa pobrana do probówek z EDTA

Inne materiały

- Środki ochrony indywidualnej (ŚOI)
- Wybielacz / podchloryn sodu rozcieńczony w stosunku 1:10 (codziennie przygotowywany świeży roztwór o stężeniu końcowym 0,5%)
- Roztwór alkoholu etylowego lub denaturowanego alkoholu etylowego o stężeniu 70%
- Wytrząsarka typu vortex
- Mikrowirówka (co najmniej 1000 x g)
- Pipety i końcówki pipet z filtrem aerobowym
- Probówki stożkowe o pojemności 50 ml
- Bezwodny alkohol etylowy o czystości odczynnika do analizy
- 1X PBS, pH 7,4

Inne materiały

- Zasilacz bezprzewodowy UPS / listwa przeciwprzepięciowa
- Drukarka — Jeśli w tym agencja jest drukarka, informacja o zakupie zalecanej drukarki udzieli Centrum w sprawie klienta firmy Cepheid.

Przegląd Dobrej Praktyki Laboratoryjnej

Środki ochrony indywidualnej (ŚOI)

- Nosić czyste fartuchy laboratoryjne, okulary ochronne i rękawiczki
- Zmieniać rękawiczki między próbkami

Obszar stołu laboratoryjnego

- Regularnie czyścić powierzchnie robocze:
 - ✓ wybielaczem rozcieńczonym w stosunku 1:10*
 - ✓ roztworem alkoholu etylowego o stężeniu 70%
- Po wyczyszczeniu upewnić się, że powierzchnie robocze są suche

Przechowywanie materiałów, próbek i zestawów

- Próbkę przechowywać z dala od zestawów, aby zapobiec zanieczyszczeniu

Sprzęt

- Używać końcówek pipet z filtrem, gdy jest to zalecane
- Przestrzegać wytycznych producenta w zakresie kalibracji i konserwacji sprzętu

* Ostateczne stężenie aktywnego chloru powinno wynosić 0,5%, niezależnie od stężenia wybielacza w danym kraju.

Obsługa zestawu



Zawartość zestawu testu Xpert® NPM1 Mutation

Numer katalogowy

GXNPM1-CE-10

Liczba kartridży*
w zestawie

10

Fiolki z odczynnikami
(po 10 szt.)

Proteinaza K (PK)
Odczynnik do lizy (LY) (chlorek guanidyny)
Odczynnik do przemywania

Plik definicji testu (ADF) Xpert NPM1 Mutation

Płyta CD zestawu

Instrukcja importowania testu Xpert NPM1 Mutation

Instrukcja użycia (IFU)

Przechowywanie

2–8°C



* Kartridże zawierają substancje niebezpieczne chemicznie. Szczegółowe informacje podano w instrukcji użycia oraz w karcie charakterystyki substancji niebezpiecznej.

Przechowywanie i obsługa zestawu

- Zestaw testu Xpert® NPM1 Mutation przechowywać w temperaturze 2–8°C.
- Wieczko kartridża można otworzyć dopiero wtedy, gdy użytkownik będzie gotowy do wykonania testu.
- Nie używać kartridża, który przecieka.
- Odczynnik do przemywania to przejrzysty, bezbarwny płyn. Nie należy używać odczynnika do przemywania, który uległ zmętnieniu lub przebarwieniu.
- Na dwadzieścia (20) minut przed rozpoczęciem procedury należy wyjąć próbkę krwi, kartridż i odczynnik do przygotowania próbki z miejsca przechowywania, aby osiągnęły temperaturę pokojową (od 20°C do 30°C).
- Nie używać kartridży po upływie daty ważności.



Ostrzeżenia i środki ostrożności

- Do diagnostyki *in vitro*.
- Wszystkie próbki biologiczne, w tym użyte kartridże i odczynniki, należy traktować jako materiały mogące przenosić czynniki zakaźne.
- Często niemożliwe jest określenie, czy dana próbka biologiczna może być zakaźna, dlatego ze wszystkimi należy postępować z zachowaniem standardowych środków ostrożności.
- Wytyczne dotyczące postępowania z próbkami wydała amerykańska agencja Centers for Disease Control and Prevention⁶ oraz instytut Clinical and Laboratory Standards Institute⁷.
- Należy przestrzegać obowiązujących w placówce użytkownika procedur bezpieczeństwa dotyczących postępowania z substancjami chemicznymi i próbkami biologicznymi.
- Charakterystyka robocza tego testu została ustalona wyłącznie dla krwi pobranej do probówek zawierających EDTA. Nie oceniono działania testu z innymi typami próbek.

6. Centers for Disease Control and Prevention. Biosafety in Microbiological and Biomedical laboratories (patrz najnowsze wydanie). <http://www.cdc.gov/biosafety/publications/>

7. Clinical and Laboratory Standards Institute. Protection of Laboratory Workers from Occupationally Acquired Infections; Approved Guideline. Dokument M29 (należy zapoznać się z najnowszym wydaniem).



Ostrzeżenia i środki ostrożności (ciąg dalszy)

- Wiarygodność wyników zależy od odpowiedniego pobierania, transportowania, przechowywania i przetwarzania próbek. Błędne wyniki testu mogą być spowodowane niewłaściwym pobraniem próbek, postępowaniem z próbkami lub przechowywaniem próbek, błędem technicznym, pomięciem próbek bądź ilością transkryptów docelowych w próbce będącą poniżej granicy wykrywalności testu. Uważne przestrzeganie instrukcji użytkownika oraz *Instrukcji obsługi systemu GeneXpert® Dx jest konieczne, aby uniknąć uzyskania błędnych wyników.*
- Użycie testu Xpert® NPM1 Mutation poza zalecanymi zakresami czasu i temperatury przechowywania zestawu lub próbki może prowadzić do uzyskania błędnych lub nieważnych wyników.
- Próbki biologiczne, wyroby do przenoszenia i zużyte kartridże należy traktować jako materiały mogące przenosić czynniki zakaźne, w tym zgodnie z zachowaniem standardowych środków ostrożności. Należy przestrzegać obowiązujących w placówce użytkownika procedur dotyczących odpadów środowiskowych w zakresie odpowiedniego usuwania zużytych kartridży i niewykorzystanych odczynników. Materiały te mogą stanowić niebezpieczne odpady chemiczne, których usuwanie musi się odbywać zgodnie z obowiązującymi krajowymi i/lub regionalnymi przepisami. Jeśli krajowe lub regionalne przepisy nie regulują kwestii dotyczących odpowiedniego usuwania, wówczas próbki biologiczne i zużyte kartridże należy usunąć zgodnie z wytycznymi Światowej Organizacji Zdrowia (World Health Organization, WHO) dotyczącymi postępowania z odpadami medycznymi i usuwania odpadów medycznych⁸.

⁸Health-care Waste. Światowa Organizacja Zdrowia. <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/health-care-waste>.

Ograniczenia testu Xpert® NPM1 Mutation

- Test nie jest przeznaczony do stosowania z zewnętrznymi kalibratorami.
- Modyfikacja tych procedur może wpłynąć na skuteczność testu.
- Ten produkt opracowano pod kątem stosowania wyłącznie z próbkami krwi pobranymi do próbek zawierających EDTA.
- Nie wolno używać heparyny jako antykoagulantu, ponieważ może ona powodować inhibicję reakcji PCR.
- Nie zatwierdzono próbek typu: próbka z cytrynianem sodu, kożuszek leukocyta-mięśniowy i szpik kostny.
- Błędne wyniki testu mogą być spowodowane niewłaściwym pobraniem próbek, postępowaniem z próbkami lub przechowywaniem próbek bądź pomyleniem próbek. Uważne przestrzeganie instrukcji użycia jest konieczne, aby uniknąć uzyskania błędnych wyników.
- Mutacje lub polimorfizmy w regionach wiązania starterów lub sond mogą wpływać na wykrywanie nowych lub nieznanymi wariantów, co może prowadzić do uzyskania wyniku fałszywie ujemnego (FN).
- Nadmiernie wysoka liczba krwinek białych może powodować wzrost ciśnienia w kartridżu i prowadzić do przerwania analizy lub uzyskania nieprawidłowych wyników.
- Niektóre próbki z bardzo niskimi poziomami transkryptów ABL lub z liczbą krwinek białych mniejszą niż 150 000 komórek/ml mogą być zgłaszane z wynikiem NEWAŻNY (INVALID) (typ 1). Wynik niejednoznaczny nie wyklucza obecności bardzo niskich stężeń komórek białaczkowych w próbce.

Pobieranie, przechowywanie i transport próbek

Transport i przechowywanie próbek

- Próbkę krwi obwodowej należy pobierać do probówek zawierających EDTA zgodnie z wytycznymi placówki użytkownika.
- Nie należy oddzielać osocza od komórek.

Typ próbki

Przechowywanie

Próbka krwi pełnej

2–8°C przez maksymalnie 3 dni

Przygotowanie kartridża

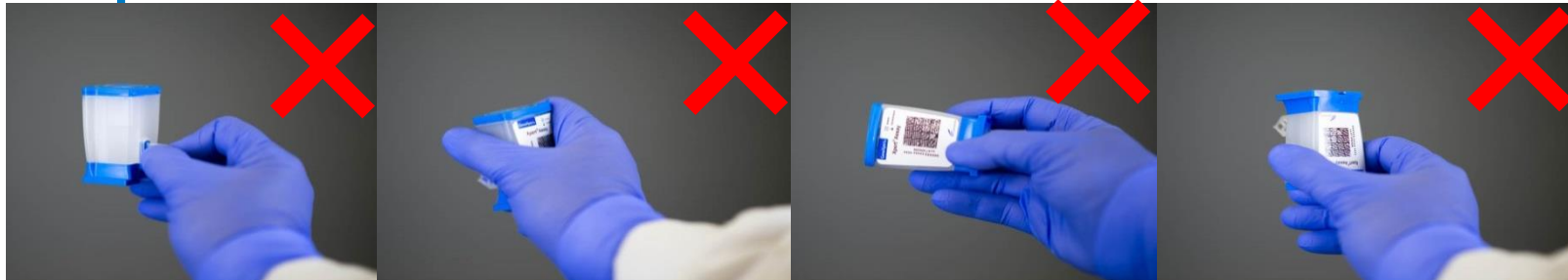
Prawidłowe techniki postępowania z kartridżem

Prawidłowo

- Nie dotykać komory reakcyjnej
- Trzymać kartridż w pozycji pionowej
- Nie przechylać po dodaniu próbki



Nieprawidłowo



Przed rozpoczęciem procedury...

- Dwadzieścia (20) minut przed rozpoczęciem procedury należy wyjąć próbkę krwi, odczynniki do przygotowania próbki i kartridże z miejsca przechowywania, aby osiągnęły temperaturę pokojową.
- Zwirować krótko proteinazę K (PK) w mikrowirówce.
- Test rozpocząć w ciągu **1 godziny** od momentu dodania do kartridża próbki przygotowanej z użyciem odczynnika do próbek.
- Przed przygotowaniem próbki wyjąć kartridż z kartonowego opakowania.

Przygotowanie kartridża testu Xpert® NPM1 Mutation — próbki z nieznaną liczbą białych krwinek (WBC) LUB <30 milionami białych krwinek / μ l

Przygotowanie lizatu i kartridża

- Xpert® BCR-ABL Ultra
- Xpert® BCR-ABL Ultra p190
- Xpert® NPM1 Mutation

Szczegółowe instrukcje, środki ostrożności i ostrzeżenia zamieszczono w ulotce informacyjnej.

Kopia karty charakterystyki substancji niebezpiecznej (SDS, Safety Data Sheet) jest dostępna na stronie www.cepheid.com lub www.cepheidinternational.com

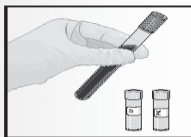
Centrum wsparcia klienta firmy Cepheid
Oddział w USA (888) 838-3222, 2 opcja techsupport@cepheid.com
Oddział w Europie +33 563 82 53 19 support@cepheidurope.com

Przed rozpoczęciem procedury pozostawić poniższe składniki na 20 minut do osiągnięcia temperatury pokojowej (20°C – 30°C)

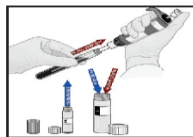
- próbka krwi
- kartridż
- odczynniki do przygotowania próbek



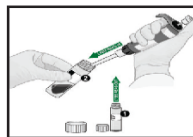
1 Wyjąć próbkę krwi pełnej z EDTA i odczynniki do przygotowania próbki z lodówki. Umieścić próbkę krwi z EDTA na wytrząsarce lub odwrócić 8 razy przed pobraniem próbki.



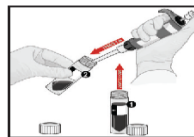
2 Krótko wirować odczynnik proteinazy K (PK). Dodać 100 μ l odczynnika PK do próbki stożkowej o poj. 50 ml. Następnie, do tej samej próbki stożkowej o poj. 50 ml, dodać 4 ml dobrze wymieszanej krwi pełnej z EDTA. Mieszać w mieszadle typu Vortex przez 3 s i inkubować przez 1 min w temperaturze pokojowej.



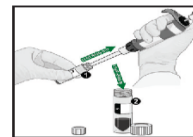
3 Do tej samej próbki dodaj 2,5 ml odczynnika do lizy (LY), mieszać w mieszadle typu Vortex przez 10 s i inkubować przez 5 min w temperaturze pokojowej. Ponownie wymieszać w mieszadle typu Vortex przez 10 s i inkubować 2-gi raz przez 5 min. Wymieszać stukając 10 razy w próbkę.



4 Przenieść 1 ml preparatu lizatu do nowej próbki stożkowej o poj. 50 ml. Zachować pozostałą część lizatu do ewentualnego ponownego testu.



5 Do nowej próbki stożkowej zawierającej wcześniej przygotowany lizat dodać 1,5 ml odczynnika do lizy (LY). Mieszać w mieszadle typu Vortex przez 10 s i inkubować przez 10 min w temperaturze pokojowej.



6 Do tej samej próbki stożkowej dodać 2 ml bezwodnego alkoholu etylowego. Mieszać w mieszadle typu Vortex przez 10 s i odstawić. Wyrzucić pozostałości odczynnika PK lub LY.



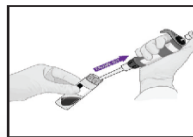
7 Otworzyć wieczko testowego kartridża Xpert.



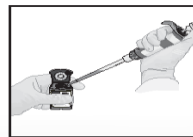
8 Przenieść całą zawartość ampulki z odczynnikami do przemywania do komory na przemywanie (z małym otworem)



9 Przenieść za pomocą pipety całą zawartość gotowego lizatu z próbki stożkowej.



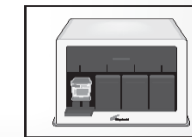
10 Przenieść całą zawartość (~4,5 ml) przygotowanej próbki do komory na próbkę.



11 Zamknąć pokrywę kartridża Xpert.



12 Rozpocząć test w czasie określonym w ulotce informacyjnej.



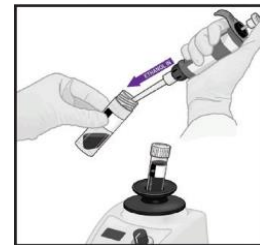
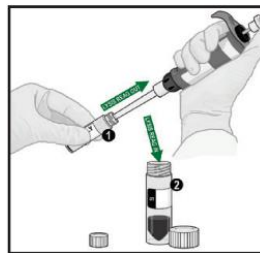
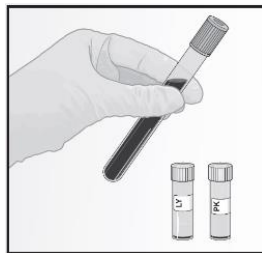
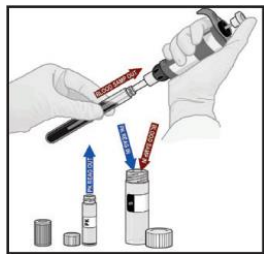
Przygotowanie kartridża testu Xpert® NPM1 Mutation — próbki z co najmniej 30 milionami białych krwinek/μl

1. Na dno nowej probówki stożkowej o pojemności 50 ml dodać 100 μl **proteiny K (PK)**. Odwrócić probówkę do pobrania krwi z EDTA 8 razy bezpośrednio przed pipetowaniem, aby próbka krwi została dobrze wymieszana.

2. Dodać 250 μl **próbki krwi** i 3,75 ml 1xPBS (pH 7,4, dostarczany przez użytkownika). Wymieszać próbkę w wyrząsare typu vortex z maksymalną prędkością w trybie ciągłym przez 3 sekundy. Inkubować w temperaturze pokojowej przez 1 minutę.

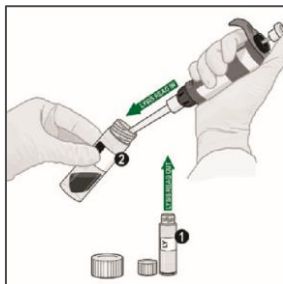
3. Do tej samej probówki dodać 2,5 ml **odczynnika do lizy (LY)**. Wymieszać próbkę w wyrząsare typu vortex z maksymalną prędkością w trybie ciągłym przez 10 sekund. Inkubować w temperaturze pokojowej przez 5 minut. Wymieszać próbkę w wyrząsare typu vortex z maksymalną prędkością w trybie ciągłym przez 10 sekund. Inkubować w temperaturze pokojowej przez 5 minut. Wymieszać próbkę, stukając 10 razy w dno probówki. Przenieść 1 ml przygotowanego lizatu do nowej probówki stożkowej o pojemności 50 ml.

4. Do tej samej probówki stożkowej dodać 1,5 ml **zachowanego odcynnika do lizy (LS)**. Wymieszać próbkę w wyrząsare typu vortex z maksymalną prędkością w trybie ciągłym przez 10 sekund. Inkubować w temperaturze pokojowej przez 10 minut.



Przygotowanie kartridża testu Xpert® NPM1 Mutation — próbki z co najmniej 30 milionami białych krwinek/μl (ciąg dalszy)

5. Do tej samej próbówki stożkowej dodać 2 ml bezwodnego alkoholu etylowego o czystości ciodczynnika do analiz (dostarczany przez użytkownika).



6. Wymieszać próbkę w wytrząsarce typu vortex z maksymalną prędkością w trybie ciągłym przez 10 sekund. Odstawić do miejsca o temperaturze pokojowej.



7. Wyjąć kartridż z kartonowego opakowania.

8. Sprawdzić kartridż pod kątem uszkodzeń. W razie zaobserwowania uszkodzenia nie używać kartridża.

9. Otworzyć wieczko kartridża. Przenieść całą zawartość ampułki z odczynnikami do przemywania (1) do komory na odczynnik do przemywania (z małym otworem).

10. Za pomocą pipety przenieść całą przygotowaną próbkę do komory na próbkę (duży otwór).

11. Zamknąć wieczko kartridża Xpert®.

12. Rozpocząć test w czasie określonym w ulotce informacyjnej.

Zachowanie pozostałego lizatu

- Przechowywać pozostałą ilość lizatu w temperaturze 2–8°C przez maksymalnie 48 godzin LUB w temperaturze -20°C lub niższej przez maksymalnie 1 miesiąc

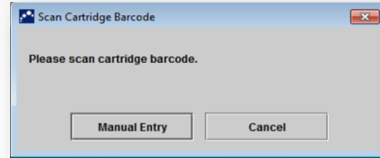
Wykonywanie testu w systemie GeneXpert® Dx

1 Utworzyć test.



Rozpocząć test w ciągu
1 godziny od czasu
dodania próbki do
kartridża.

2 Zeskanować kod kreskowy
identyfikatora pacjenta i/lub



3 Zeskanuj kartridż .



Aby uzyskać szczegółowe informacje na temat przeprowadzania testu, należy zapoznać się z informacjami podanymi w ulotce informacyjnej oraz w instrukcji obsługi systemu GeneXpert Dx.

Wykonywanie testu w systemie GeneXpert® Dx (ciąg dalszy)

4 Wypełnić wymagane pola.

5 Test Xpert® NPM1 Mutation jest wybierany automatycznie.

6 Moduł jest wybierany automatycznie.

7 Kliknąć przycisk Rozpocznij badanie (Start Test).

8 Na module zaświecić zielną lampkę.
Załaduj kartridż do modułu izamyknij drzwi czarnego modułu.

Create Test

Patient ID

Sample ID

Patient ID 2

Last Name

Name

Select Assay Xpert NPM1 Mutation

Select Module A3

Reagent Lot ID* 16119 Expiration Date* 2016/1/17

Test Type Specimen

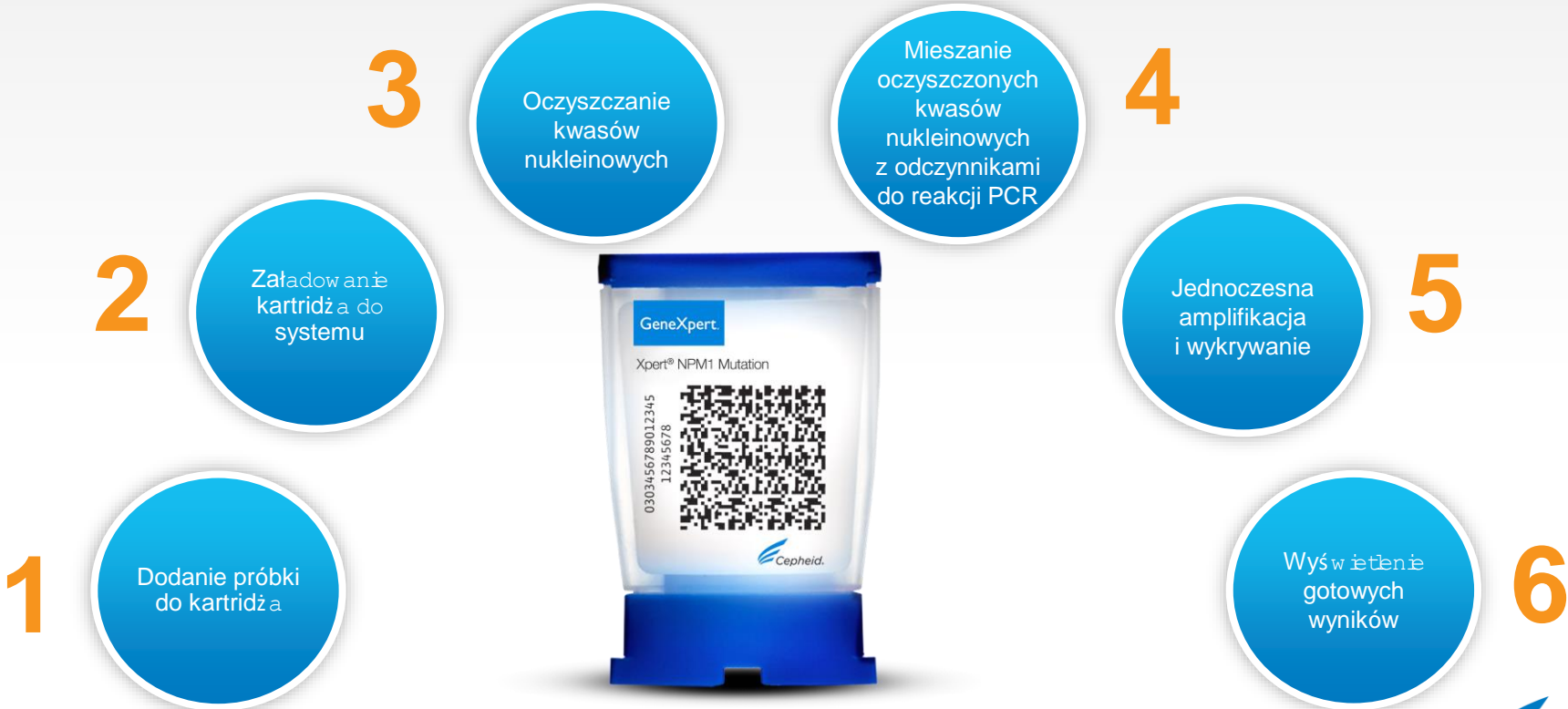
Sample Type Other Other S

Notes

Start Test Scan Cartridge Barcode



Zautomatyzowany protokół testu Xpert® NPM1 Mutation



Kontrole jakości



Xpert® NPM1 Mutation

- **Kontrole jakości testu Xpert® NPM1 Mutation**
 - Każdy kartridż testu Xpert jest samodzielnym wyrobem testowym
 - Firma Cepheid opracowała swoje metody molekularne uwzględniające kontrole wewnętrzne, które umożliwiają systemowi wykrywanie określonych typów niepowodzeń w każdym kartridżu:
 - **Kontrole sondy (PCC)**
 - **Kontrola endogenna — gen ABL1**

Patrz dokument 301-4868 „Funkcje kontroli jakości systemu GeneXpert® dla wszystkich testów Xpert firmy Cepheid” („GeneXpert® Quality Control Features for all Cepheid Xpert tests”).

Wewnętrzne kontrole jakości

• Kontrola endogenna — gen ABL1

- Normalizuje sekwencję docelową zm utowanego genu NPM1
- Potwierdza, że do testu użyto wystarczająco jej próbki
- Wykrywa inhibicję reakcji PCR w czasie rzeczywistym w związku ze składnikami zawartymi w próbce

• Kontrole sondy (PCC)

- Przed etapem reakcji PCR sygnał fluorescencji jest mierzony na wszystkich sondach i porównywany z domyślnymi i ustawieniami w celu monitorowania następujących parametrów:
 - nawodnienie kulek
 - integralność sondy
 - napętnienie komory reakcyjnej
 - stabilność barwnika
- Sprawdzenie, czy wszystkie składniki reakcji prawidłowo działają w kartridżu
- Kontrola PCC zakończy się powodzeniem, jeśli spełnione przypisane kryteria akceptacji

Dostępne na rynku kontrole zewnętrzne

CONTROL

- W przypadku pytań dotyczących kontroli zewnętrznych należy skontaktować się z Centrum wsparcia klienta pod adresem:
E-mail: support@cepheideurope.com
- Dane kontaktowe wszystkich oddziałów Centrum wsparcia klienta firmy Cepheid są dostępne na naszej stronie internetowej:

<http://www.cepheid.com/en/support/contact-us>

Interpretacja wyników

Możliwe wyniki testu

Wynik	Interpretacja
WYKRYTO mutację genu NPM1 (NPM1 Mutation DETECTED)	Wykryto transkrypt zmutowanego genu NPM1. <ul style="list-style-type: none">○ WYKRYTO MUTACJĘ GENU NPM1 [#,#%] (NPM1 MUTATION DETECTED [#.##%])○ WYKRYTO MUTACJĘ GENU NPM1 [powyżej górnej granicy LoQ] (NPM1 MUTATION DETECTED [Above upper LoQ])○ WYKRYTO MUTACJĘ GENU NPM1 [poniżej granicy wykrywalności; <#,###%] (NPM1 MUTATION DETECTED [Below LoD; <#.###%])
NIE WYKRYTO zmutowanego genu NPM1 (NPM1 Mutation NOT DETECTED)	Nie wykryto transkryptu zmutowanego genu NPM1.
NIEWAŻNY (INVALID)	Nie można określić poziomu transkryptów zmutowanego genu NPM1, ponieważ próbka zawiera zbyt wiele transkryptów zmutowanego genu NPM1 i/lub zbyt wiele albo zbyt mało transkryptów genu ABL.
BŁĄD (ERROR)	Nie można określić poziomu transkryptów zmutowanego genu NPM1.
BRAK WYNIKU (NO RESULT)	Nie można określić poziomu transkryptów zmutowanego genu NPM1. Nie można uzyskać wyniku testu, ponieważ nie zgromadzono wystarczających danych.

Wyniki ilościowe

- Wyniki ilościowe testu Xpert® NPM1 Mutation są podawane jako współczynnik procentowy zmutowanego genu NPM1/genu ABL1. Do zestawów przypisuje się właściwe dla serii wartości skuteczności ($E_{\Delta Ct}$) i współczynnika skalowania (SF), które powiązują ilościowe oznaczenie transkryptów zmutowanego genu NPM1 (A, B i D) i genu ABL1 z liczbami kopii syntetycznych wzorców podstawowych RNA zmutowanego genu NPM1 i genu ABL1 transkrybowanych in vitro (IVT-RNA).

WYKRYTO mutację genu NPM 1 [#,##]% (NPM 1 Mutation DETECTED [#,##]%)

Wykryto mutację genu NPM 1 na poziomie #,##% .

- Dla wyniku „**WYKRYTO mutację genu NPM 1 [#,##%] (NPM 1 Mutation DETECTED [#,##%])**” mutacja w genie NPM1 jest wykrywalna, jeśli wartość C_{td} zm utowanego genu NPM 1 wynosi co najmniej 6 i nie więcej niż 32, a wartość C_{td} genu ABL wynosi co najmniej 6 i nie więcej niż 20.
- Oprogramowanie GeneXpert oblicza wartość % na podstawie poniższego równania, gdzie wartość delta Ct (ΔCt) to wartość C_{td} genu ABL minus wartość C_{td} zm utowanego NPM 1:

$$\% = E_{\Delta Ct}^{(\Delta Ct)} \times 100 \times \text{współczynnik skalowania}$$

Współczynnik skalowania (SF) to właściwy dla serii parametr, który jest zawarty w kodzie kreskowym kartridża testowego. Wartości tego współczynnika i skuteczności testu właściwej dla serii ($E_{\Delta Ct}$) są określone podczas testów kontroli jakości dla każdej serii testu z użyciem standardów podstawowych skalowanych względem liczby kopii syntetycznych kalibratorów RNA zm utowanego NPM1 i ABL1 transkrybowanego *in vitro* (IVTRNA) do oznaczania ilościowego transkryptów zm utowanego NPM 1. Wartość $E_{\Delta Ct}$ została ustawiona na 1,95, a wartość SF została ustawiona na 1,79 na potrzeby poniższego przykładu:

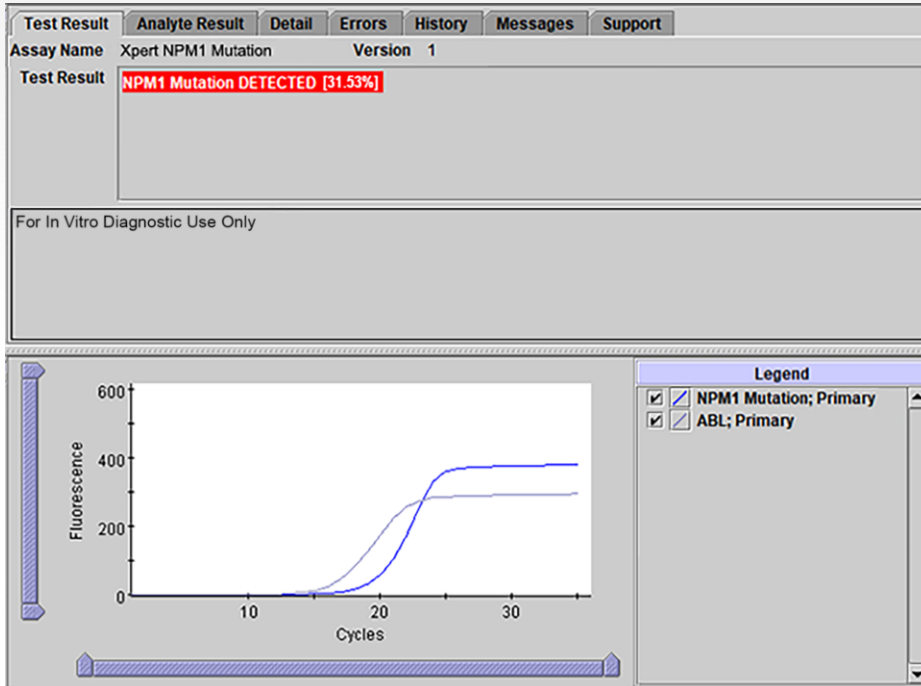
Przykład: Właściwa dla serii wartość $E_{\Delta Ct} = 1,95$; $SF = 1,79$

Uzyskane w testie wartości: C_{td} genu ABL = 14,5; C_{td} zm utowanego genu NPM 1 = 17,1; $\Delta Ct = -2,6$

$$\% = 1,95^{(-2,6)} \times 100 \times 1,79 = 31,53\%$$

Wynik: WYKRYTO mutację genu NPM 1 [31,53%] (NPM 1 Mutation DETECTED [31,53%]).

WYKRYTO mutację genu NPM 1 [#.##]% (NPM 1 Mutation DETECTED [#.##]%) (ciąg dalszy)



- Mutacja genu NPM1 — Wykryto [#.##]% (Detected [#.##]%)
 - Cykl progowy (Ct) w zakresie prawidłowym : $6 \leq Ct \leq 32$, a punkt końcowy powyżej progu (przykład: Ct dla zm utowanego genu NPM1 = 17,1)
- ABL — POWODZENIE (PASS)
 - Cykl progowy (Ct) w zakresie prawidłowym : $6 \leq Ct \leq 20$, a punkt końcowy powyżej progu (przykład: Ct dla genu ABL = 14,5)
- Kontrola sondy — POWODZENIE (PASS)
 - Wszystkie wyniki kontroli sondy są poprawne

WYKRYTO mutację genu NPM 1 [powyżej górnej granicy LoQ] (NPM1 Mutation DETECTED [Above upper LoQ])

Wykryto mutację NPM 1 na poziomie $> 500\%$.

- Dla wyniku „WYKRYTO mutację genu NPM 1 [powyżej górnej granicy LoQ] (NPM 1 Mutation DETECTED [Above upper LoQ])” mutacja w genie NPM1 jest wykrywalna, jeśli wartość C_{td} zmutowanego genu NPM1 wynosi co najmniej 6 i nie więcej niż 32, a wartość C_{td} genu ABL wynosi co najmniej 6 i nie więcej niż 20.
- Oprogramowanie GeneXpert oblicza wartość % na podstawie poniższego równania, gdzie wartość ΔC_t to wartość C_{td} genu ABL minus wartość C_{td} zmutowanego NPM 1:

$$\% = E_{\Delta C_t}^{(\Delta C_t)} \times 100 \times \text{współczynnik skalowania (SF)}$$

Współczynnik skalowania (SF) to właściwy dla serii parametr, który jest zawarty w kodzie kreskowym kartridża testowego. Wartość tego współczynnika i skuteczność testu właściwej dla serii ($E_{\Delta C_t}$) są określone podczas testów kontroli jakości każdej serii testu z użyciem standardów podstawowych skalbrowanych względem liczby kopii syntetycznych kalibratorów RNA zmutowanego NPM1 i ABL1 transkrybowanego in vitro (IVTRNA) do oznaczania ilościowego transkryptów zmutowanego NPM 1. Wartość $E_{\Delta C_t}$ została ustawiona na 1,95, a wartość SF została ustawiona na 1,79 na potrzeby następnego przykładu:

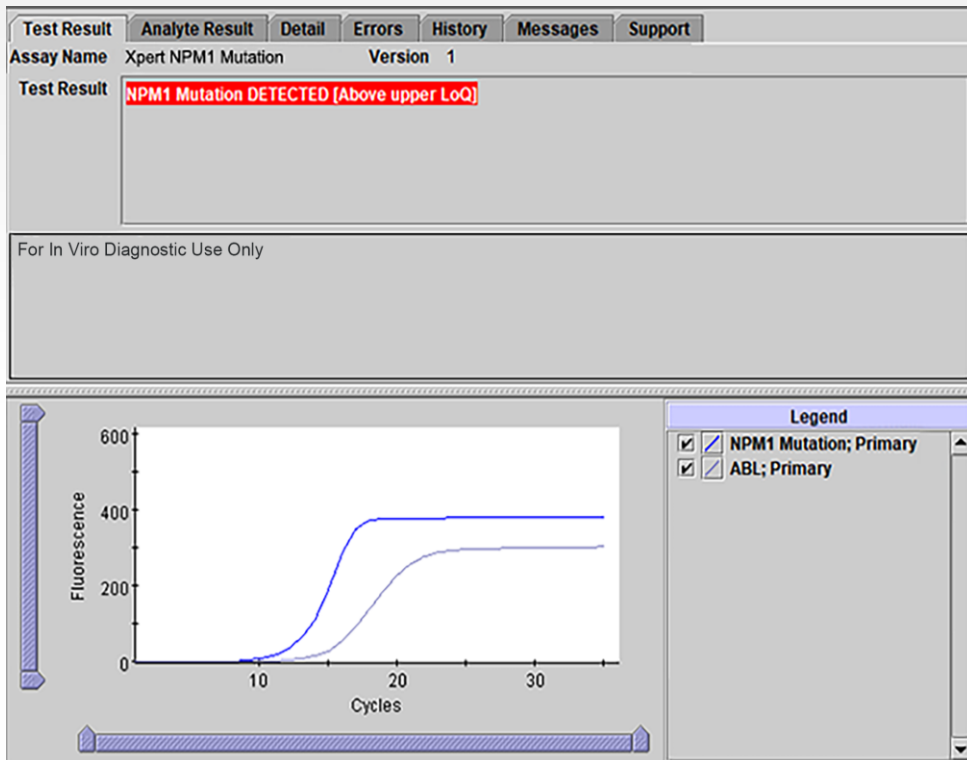
Przykład: Właściwa dla serii wartość $E_{\Delta C_t} = 1,95$; $SF = 1,79$

Uzyskane w testie wartości C_{td} genu ABL = 13,4; C_{td} zmutowanego genu NPM 1 = 10,2;

$\Delta C_t = 3,2\% = 1,95^{(3,2)} \times 100 \times 1,79 = 1516,92\%$, czyli więcej niż zdefiniowana górna granica ilości oznaczenia ilościowego testu wynosząca 500%

Wynik: WYKRYTO mutację genu NPM 1 [powyżej górnej granicy LoQ] (NPM 1 Mutation DETECTED [Above upper LoQ]).

WYKRYTO mutację genu NPM 1 [powyżej górnej granicy LoQ] (NPM1 Mutation DETECTED [Above upper LoQ]) (ciąg dalszy)



Wykryto mutację genu NPM 1 na poziomie $> 500\%$

- Mutacja genu NPM1 — Wykryto [powyżej górnej granicy LoQ] (Detected [Above upper LoQ])
 - Cykl progowy (Ct) w zakresie prawidłowym : $6 \leq Ct \leq 32$, a punkt końcowy powyżej progu (przykład: Ct dla zm utowanego genu NPM1 = 10,2)
- ABL — POWODZENIE (PASS)
 - Cykl progowy (Ct) w zakresie prawidłowym : $6 \leq Ct \leq 20$, a punkt końcowy powyżej progu (przykład: Ct dla genu ABL = 13,4)
- Kontrola sondy — POWODZENIE (PASS)
 - Wszystkie wyniki kontroli sondy są poprawne

WYKRYTO mutację genu NPM 1 [poniżej granicy wykrywalności, <0,030%] (NPM1 Mutation DETECTED [Below LoD, < 0.030%]).

Wykryto mutację w genie NPM 1 na poziomie <0,030% .

- Dla wyniku „**WYKRYTO mutację genu NPM 1 [poniżej granicy wykrywalności, <0,030%] (NPM1 Mutation DETECTED [Below LoD, < 0.030%])**” mutacja w genie NPM1 jest wykrywalna, jeśli wartość Ct dla zm utowanego genu NPM 1 wynosi co najmniej 6 i nie więcej niż 32, a wartość Ct dla genu ABL wynosi co najmniej 6 i nie więcej niż 20.
- Oprogramowanie GeneXpert oblicza wartość % na podstawie poniższego równania, gdzie wartość delta Ct (ΔCt) to wartość Ct dla genu ABL minus wartość Ct dla zm utowanego NPM 1:

$$\% = E_{\Delta Ct}^{(\Delta Ct)} \times 100 \times \text{współczynnik skalowania}$$

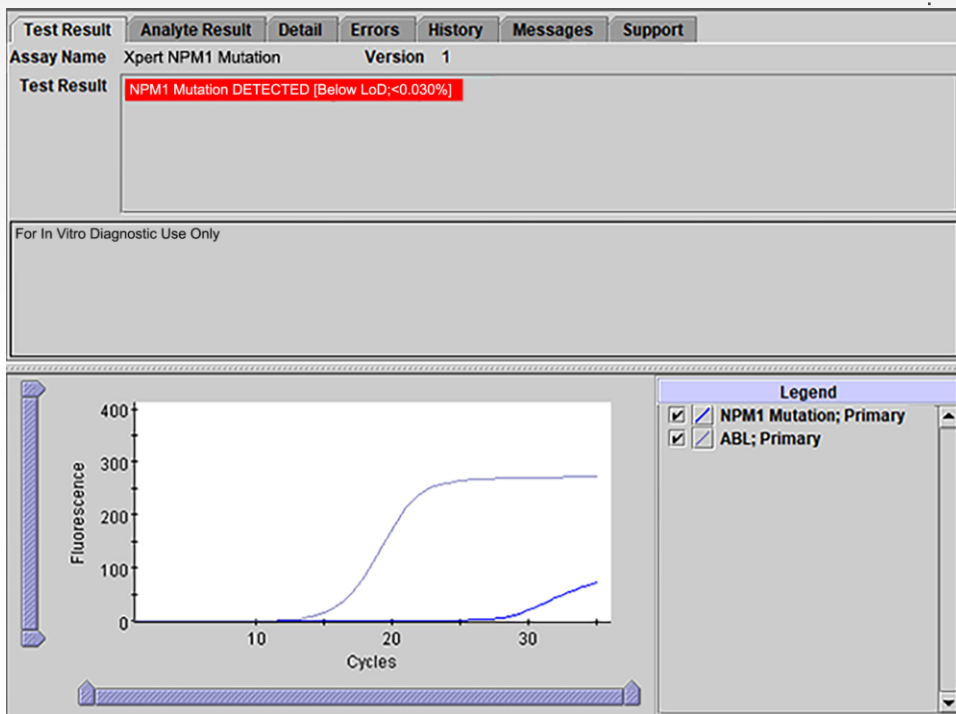
Współczynnik skalowania (*SF*) to właściwy dla serii parametr, który jest zawarty w kodzie kreskowym kartridża testowego. Wartości tego współczynnika i skuteczności testu właściwej dla serii ($E_{\Delta Ct}$) są określone podczas testów kontroli jakości dla każdej serii testu z użyciem standardów podstawowych skalibrowanych w zędem liczby kopii syntetycznych kalibratorów RNA zm utowanego NPM1 i ABL1 transkrybowanego *in vitro* (IVTRNA) do oznaczania ilościowego transkryptów zm utowanego NPM 1. Wartość $E_{\Delta Ct}$ została ustawiona na 1,95, a wartość *SF* została ustawiona na 1,79 na potrzeby poniższego przykładu:

Przykład: Właściwa dla serii wartość $E_{\Delta Ct} = 1,95$; $SF = 1,79$

Uzyskane w teście wartości: Ct dla genu ABL = 14,3; Ct dla zm utowanego genu NPM 1 = 28,8; $\Delta Ct = -14,5\% = 1,95^{(-14,5)} \times 100 \times 1,79 = 0,011\%$, czyli mniej niż zdefiniowana granica wykrywalności testu wynosząca 0,030%

Wynik: WYKRYTO mutację genu NPM 1 [poniżej granicy wykrywalności, <0,030%] (NPM1 Mutation DETECTED [Below LoD, < 0.030%])

WYKRYTO mutację genu NPM 1 [poniżej granicy wykrywalności, <0,030%] (NPM1 Mutation DETECTED [Below LoD, < 0.030%]) (ciąg dalszy)



Wykryto mutację genu NPM 1 na poziomie <0,030%

- Mutacja genu NPM1 — Wykryto [powyżej górnej granicy LoQ] (Detected [Above upper LoQ])
 - Cykl progowy (Ct) w zakresie prawidłowym : $6 \leq Ct \leq 32$, a punkt końcowy powyżej progu (przykład: Ct dla zm utowanego genu NPM1 = 28,8)
- ABL — POWODZENIE (PASS)
 - Cykl progowy (Ct) w zakresie prawidłowym : $6 \leq Ct \leq 20$, a punkt końcowy powyżej progu (przykład: Ct dla genu ABL = 14,3)
- Kontrola sondy — POWODZENIE (PASS)
 - Wszystkie wyniki kontroli sondy są poprawne

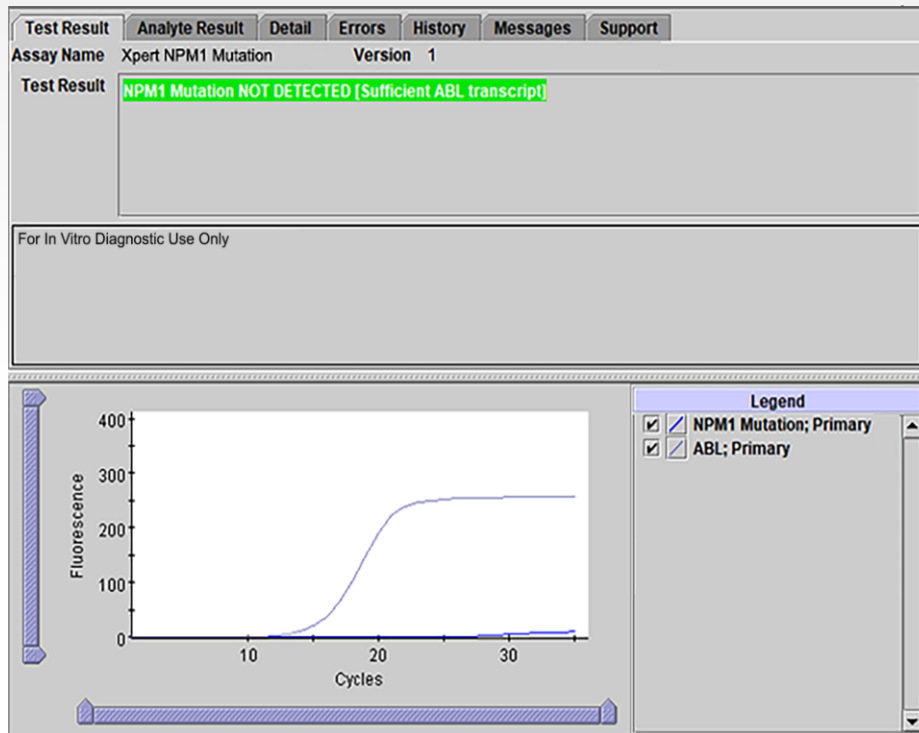
NIE WYKRYTO mutacji genu NPM1 [dostateczny transkrypt genu ABL] (NPM1 Mutation NOT DETECTED [Sufficient ABL Transcript])

- Mutacja w genie NPM1 nie została wykryta; wartość Ct dla genu NPM1 wynosi 0 lub więcej niż 32, a wartość Ct dla genu ABL wynosi więcej niż 6 i nie więcej niż 20.
- Oprogramowanie GeneXpert wymaga wartości Ct dla genu ABL wynoszącej co najmniej 6 i nie więcej niż 20, aby test Xpert NPM1 Mutation miał oznaczenie „Dostateczny transkrypt ABL (Sufficient ABL transcript)”.

Przykład: Uzyskane w teście wartości Ct dla genu NPM1 = 0; Ct dla genu ABL = 14,0, czyli w zakresie od 6 do 20.

Wynik: NIE WYKRYTO mutacji genu NPM1 [dostateczny transkrypt genu ABL] (NPM1 Mutation NOT DETECTED [Sufficient ABL transcript]).

NIE WYKRYTO mutacji genu NPM1 [dostateczny transkrypt genu ABL] (NPM1 Mutation NOT DETECTED [Sufficient ABL Transcript]) (ciąg dalszy)



- Mutacja genu NPM1 — Nie wykryto (Not detected)
 - Brak wartości cyklu progowego (C_t) lub wartość $C_t = 0$, lub punkt końcowy niższy niż ustawienie wartości progowej (przykład: C_t dla zmutowanego genu NPM1 = 0)
- ABL — POWODZENIE (PASS)
 - Cykl progowy (C_t) w zakresie prawidłowym : $6 \leq C_t \leq 20$, a punkt końcowy powyżej progu (przykład: wartość C_t dla genu ABL = 14,0)
- Kontrola sondy — POWODZENIE (PASS)
 - Wszystkie wyniki kontroli sondy są poprawne

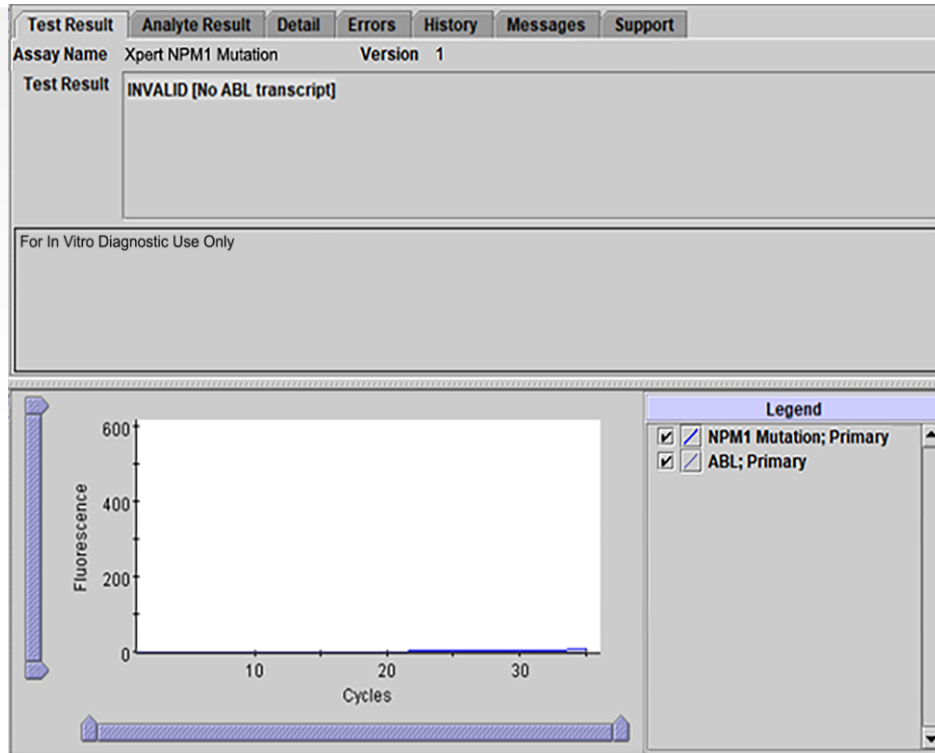
Rozwiązanie problemów



Czynniki negatywnie wpływające na wyniki

- **Niewłaściwe pobranie próbki.**
 - Nie oceniono skuteczności tego testu dla innych rodzajów preparatów lub innych próbek.
- **Niewłaściwe transportowanie lub przechowywanie pobranej próbki.**
 - Warunki przechowywania i transportu zależą od danej próbki.
 - Odpowiednie instrukcje dotyczące postępowania opisano w instrukcji użytkownika.
- **Nieprawidłowa procedura testu.**
 - Modyfikacja procedur testu może zmienić skuteczność testu.
 - **Uważne przestrzeganie instrukcji użytkownika jest konieczne, aby uniknąć uzyskania błędnych wyników.**

NIEWAŻNY [brak transkryptu genu ABL] (INVALID [No ABL transcript])



Mutacja w genie NPM1 została lub nie została wykryta, a wartość C t dla genu ABL wynosi 0.

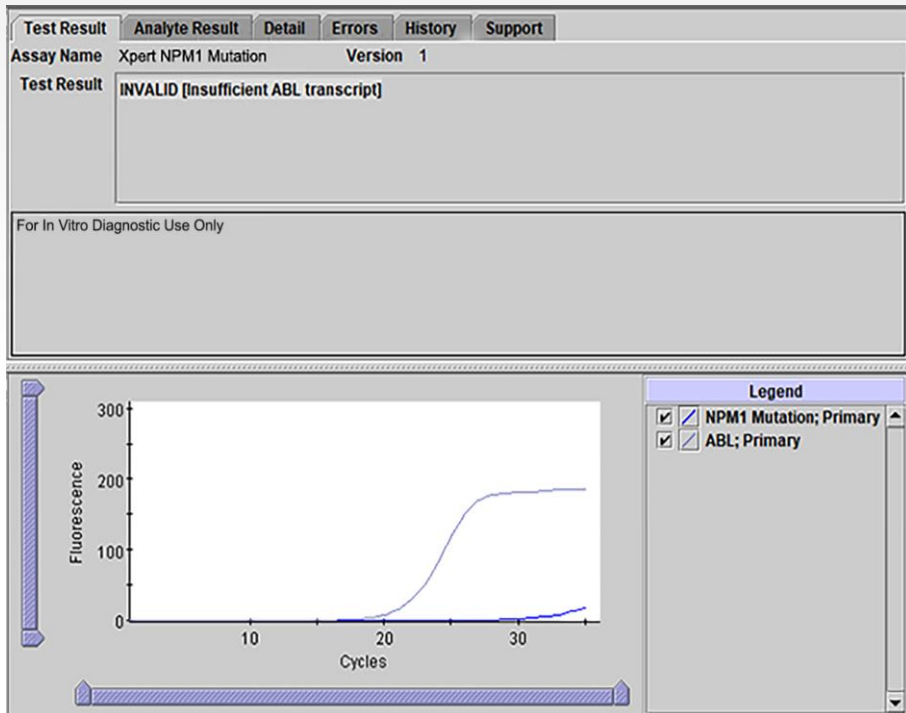
- Oprogramowanie GeneXpert wymaga wartości C t dla genu ABL wynoszącej co najmniej 6 i nie więcej niż 20.

Przykład: Uzyskane w teście wartości: C t dla zmutowanego genu NPM1 = 0

C t dla genu ABL = 0

Wynik: NIEWAŻNY [brak transkryptu genu ABL] (INVALID [No ABL transcript])

NIEWAŻNY [nieodstateczny transkrypt genu ABL] (INVALID [Insufficient ABL transcript])



Mutacja NPM1 została wykryta lub nie została wykryta przy wartości Ct ABL wynoszącej więcej niż 20.

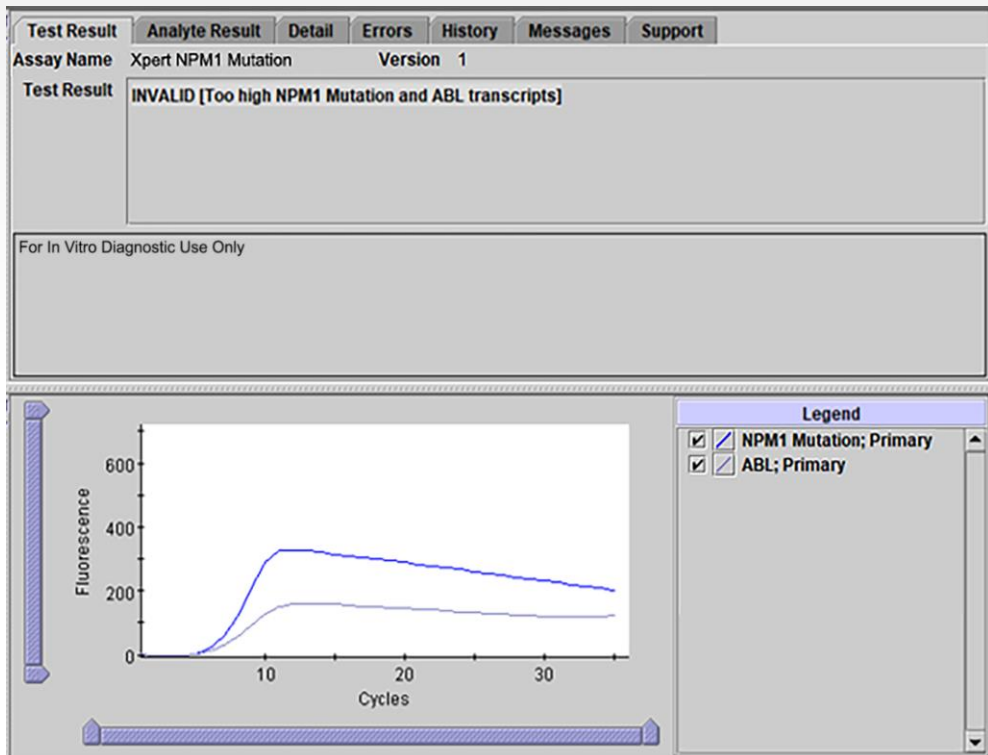
- Oprogramowanie GeneXpert wymaga wartości Ct dla genu ABL wynoszącej co najmniej 6 i nie więcej niż 20, aby test Xpert NPM1 Mutation miał oznaczenie „Dostateczny transkrypt ABL (Sufficient ABL transcript)”.

Przykład: Uzyskane w teście wartości Ct dla zmutowanego genu NPM1 = 33,3,

Ct dla genu ABL = 20,2, czyli więcej niż 20.

Wynik: NIEWAŻNY [nieodstateczny transkrypt genu ABL] (INVALID [Insufficient ABL transcript])

NIEWAŻNY [zbyt wysokiego poziomu transkryptów zm utowanego genu NPM1 i genu ABL] (INVALID [Too high NPM1 Mutation and ABL transcripts])



Mutacja w genie NPM1 została wykryta, a wartość C_t dla zm utowanego genu NPM1 i genu ABL wynoszą więcej niż 0 i mniej niż 6.

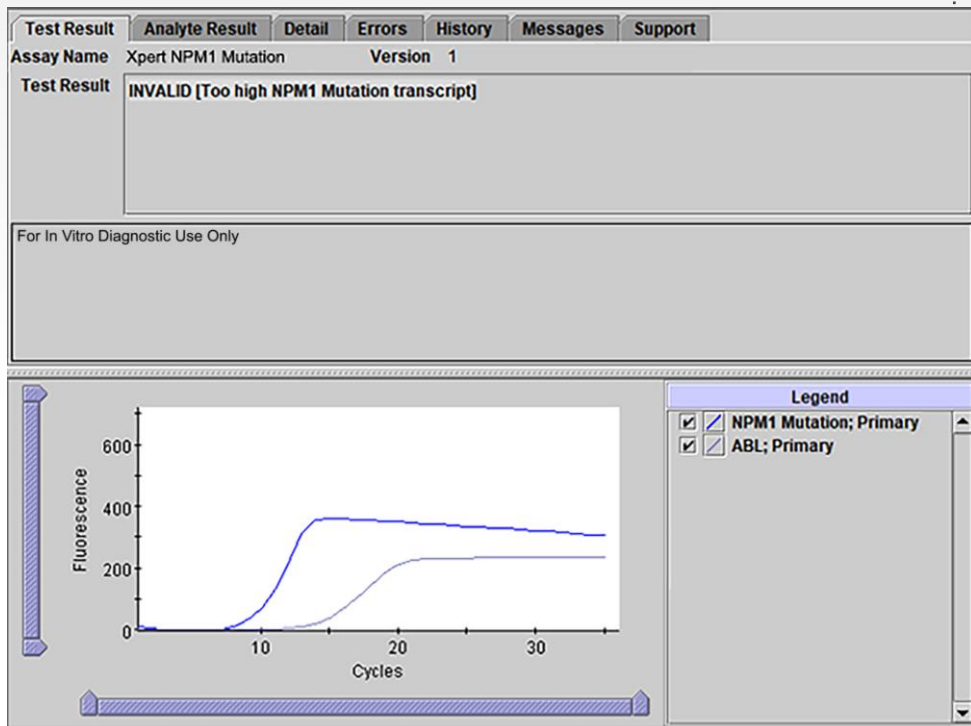
Oprogramowanie GeneXpert wymaga wartości C_t dla genu ABL wynoszącej co najmniej 6 i nie więcej niż 20, aby test Xpert NPM1 Mutation miał oznaczenie „Dostateczny transkrypt ABL (Sufficient ABL transcript)”.

Przykład: Uzyskane w testie wartości C_t dla zm utowanego genu NPM1 = 5,4, czyli więcej niż 0 i mniej niż 6;

C_t dla genu ABL = 5,9, czyli mniej niż 6.

Wynik: NIEWAŻNY [zbyt wysokiego poziomu transkryptu zm utowanego genu NPM1] (INVALID [Too high NPM1 Mutation transcript]).

NIEWAŻNY [zbyt wysokiego poziomu transkryptów zm utowanego genu NPM1] (INVALID [Too high NPM1 Mutation transcripts])



Mutacja w genie NPM1 została wykryta; wartość Ct dla zmutowanego genu NPM1 wynosi więcej niż 0 i mniej niż 6, a wartość Ct dla genu ABL wynosi więcej niż 6 i nie więcej niż 20.

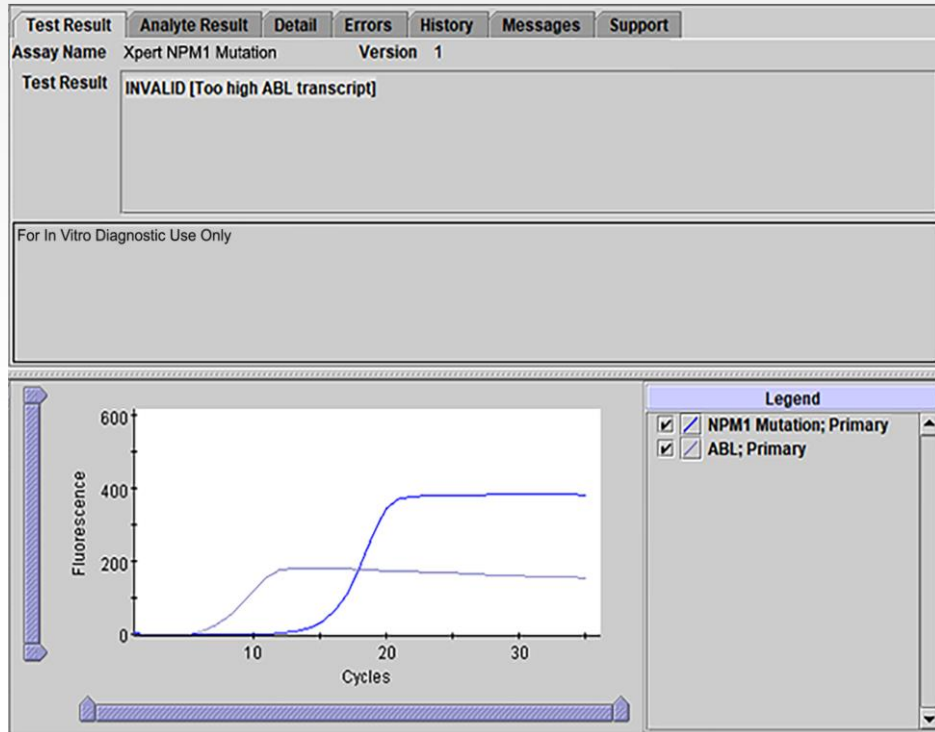
- Oprogramowanie GeneXpert wymaga wartości Ct dla genu ABL wynoszącej co najmniej 6 i nie więcej niż 20, aby test Xpert NPM1 Mutation miał oznaczenie „Dostateczny transkrypt ABL (Sufficient ABL transcript)”.

Przykład: Uzyskane w teście wartości Ct dla zmutowanego genu NPM1 = 5,8, czyli więcej niż 0 i mniej niż 6;

Ct dla genu ABL = 13, czyli między 6 a 20.

Wynik: NIEWAŻNY [zbyt wysokiego poziomu transkryptów NPM1] (INVALID [Too high NPM1 transcript]).

NIEWAŻNY [zbyt wysoki poziom transkryptów zmutowanego genu ABL] (INVALID [Too high ABL mutation transcripts])



Mutacja w genie NPM1 została wykryta; wartość Ct dla zmutowanego genu NPM1 wynosi więcej niż 6 i nie więcej niż 32, a wartość Ct dla genu ABL jest inna niż 0 i nie większa niż 6.

- Oprogramowanie GeneXpert wymaga wartości Ct dla genu ABL wynoszącej co najmniej 6 i nie więcej niż 20, aby test Xpert NPM1 Mutation miał oznaczenie „Dostateczny transkrypt ABL (Sufficient ABL transcript)”.

Przykład: Uzyskane w teście wartości Ct dla zmutowanego genu NPM1 = 13,2;
Ct dla genu ABL = 5,8, czyli mniej niż 6.

Wynik: NIEWAŻNY [zbyt wysoki poziom transkryptów genu ABL] (INVALID [Too high ABL transcript]).

BŁĄD (ERROR) — kod 2008, 5006, 5007, 5008, 5009 itd.

Test Result Analyte Result Detail Errors History Support

Assay Name Xpert NPM1 Mutation Version 1

Test Result **ERROR**

For In Vitro Diagnostic Use Only

<No Data Available>

Nie można oznaczyć poziomu transkryptów genu BCR-ABL

Możliwe przyczyny

- Niepowodzenie kontroli sondy
- Przekroczona wartość graniczna czynnika (komunikat o błędzie 2008)

Rozwiązanie

- Sprawdzić jakość próbki
- Sprawdzić, czy liczba krwinek białych nie jest znacznie podwyższona
- Powtórzyć test z użyciem pierwotnej próbki (jeśli jest dostępna) lub zachowanego licznika oraz nowego kartridża
- Powtórzyć test z użyciem następującej procedury:
Błąd (Error) 2008 Nieważny (Invalid) → **typ 2** LUB
Błąd (Error) 5006, 5007, 5008, 5009 Nieważny (Invalid) → **typ 1**

BRAK WYNIKU (NO RESULT)

NO RESULT

Nie można określić poziomu transkryptów zm utowanego genu NPM1. Nie można uzyskać wyniku testu, ponieważ nie zgromadzono wystarczających danych. Taka sytuacja może wystąpić na przykład wtedy, gdy operator zatrzyma test będący w toku.

- BRAK WYNIKU dla mutacji genu NPM1 (NPM1 Mutation NO RESULT)
- ABL — BRAK WYNIKU (NO RESULT)
- Kontrola sondy — NIE DOTYCZY (NA)

Rozwiązanie

- Powtórzyć test z użyciem pierwotnej próbki (jeśli jest dostępna) lub zachowanego lizatu oraz nowego kartridża
- Użyć procedury powtórzenia testu w przypadku wyniku Błąd (Error) LUB Nieważny (Invalid) **(typ 1)**

Procedura powtórzenia testu w przypadku wyniku BŁĄD (ERROR) lub NIEWAŻNY (INVALID) (typ 1)

- Służ y do pow tarzania testów w przypadku próbek, które uzyskały wynik BŁĄD (ERROR) lub NIEWAŻNY (INVALID) z powodu wartości cyklu progowego (Ct) dla genu ABL przekraczają cejm aksym alną prawidłową wartość Ct ($Ct > 20$) lub punktu końcowego poniżej wartości progowej (< 100).

Procedura powtórzenia testu w przypadku wyniku BŁĄD (ERROR) lub NIEWAŻNY (INVALID) (typ 1) — wystarczająca ilość próbki

Przygotowanie lizatu i kartridża

- Xpert® BCR-ABL Ultra
- Xpert® BCR-ABL Ultra p190
- Xpert® NPM1 Mutation

Szczegółowe Instrukcje, środki ostrożności i ostrzeżenia zamieszczone w ulocie informacyjnej.

Kopia karty charakterystyki substancji niebezpiecznej (SDS, Safety Data Sheet) jest dostępna na stronie www.cepheid.com lub www.cepheidinternational.com

Centrum wsparcia klienta firmy Cepheid
Oddział w USA (888) 838-3222, 2 opcja techsupport@cepheid.com
Oddział w Europie +33 563 82 53 19 support@cepheid.com

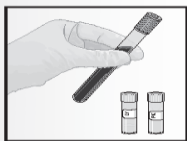
Przed rozpoczęciem procedury pozostawić poniższe składniki na 20 minut do osiągnięcia temperatury pokojowej (20°C – 30°C)

- próbka krwi
- kartridż
- odczynniki do przygotowania próbek

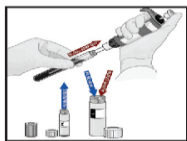


Rozpocząć tutaj

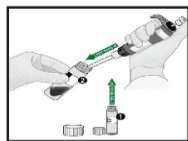
- Wyjąć próbkę krwi pełnej z EDTA i odczynnik do przygotowania próbki z łódki. Umieścić próbkę krwi z EDTA na wytrząsarce lub odwrócić 8 razy przed pobraniem próbki.
- Krótko wirować odczynnik proteinazy K (PK). Dodać 100 µl odczynnika PK do próbki stożkowej o poj. 50 ml. Następnie, do tej samej próbki stożkowej o poj. 50 ml, dodać 4 ml dobrze wymieszanej krwi pełnej z EDTA. Mieszać w mieszadle typu Vortex przez 3 s i inkubować przez 1 min w temperaturze pokojowej.
- Do tej samej próbki dodaj 2,5 ml odczynnika do lizy (LY), mieszać w mieszadle typu Vortex przez 10 s i inkubować przez 5 min w temperaturze pokojowej. Ponownie wymieszać w mieszadle typu Vortex przez 10 s i inkubować 2-gi raz przez 5 min. Wymieszać stukając 10 razy w próbkę.
- Przenieść 1 ml preparatu lizatu do nowej próbki stożkowej o poj. 50 ml. Zachować pozostałą część lizatu do ewentualnego ponownego testu.
- Do nowej próbki stożkowej zawierającej wcześniej przygotowany lizat dodać 1,5 ml odczynnika do lizy (LY). Mieszać w mieszadle typu Vortex przez 10 s i inkubować przez 10 min w temperaturze pokojowej.
- Do tej samej próbki stożkowej dodać 2 ml bezwodnego alkoholu etylowego. Mieszać w mieszadle typu Vortex przez 10 s i odstawić. Wyrzucić pozostałości odczynnika PK lub LY.



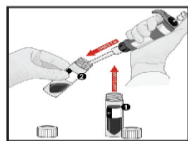
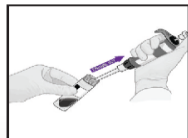
- Otwórz wieczko testowego kartridża Xpert.



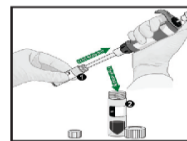
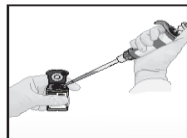
- Przenieść całą zawartość ampulki z odczynnikami do przemywania do komory na odczynnik do przemywania (z małym otworem)



- Przenieść za pomocą pipety całą zawartość gotowego lizatu z próbki stożkowej.



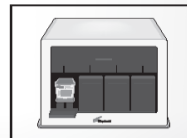
- Przenieść całą zawartość (~4,5 ml) przygotowanej próbki do komory na próbkę.



- Zamknąć pokrywę kartridża Xpert.



- Rozpocząć test w czasie określonym w ulocie informacyjnej.



Procedura powtórzenia testu w przypadku wyniku BŁĄD (ERROR) lub NIEWAŻNY (INVALID) (typ 1) — niewystarcząca ilość próbki

- Jeśli li zachow any li zat jest przechowywany w stanie zamrożonym, przed użyciem należy go doprowadzić do temperatury pokojowej.
- Wymieszać próbkę w wytrząsarce typu vortex z maksymalną prędkością w tybie ciągłym przez 10 sekund i odstawić próbkę na 3 minuty do zniknięcia pęcherzyków powietrza, aby li zat został dobrze wymieszany. Przenieść 1 ml zachowanego li zatu do nowej próbówki stożkowej o pojemności 50 ml. Następnie rozpocząć tutaj

Przygotowanie li zatu i kartridża

- Xpert® BCR-ABL Ultra
- Xpert® BCR-ABL Ultra p190
- Xpert® NPM1 Mutation

Szczegółowe instrukcje, środki ostrożności i ostrzeżenia zamieszczone w ulocie informacyjnej.

Kopia karty charakterystyki substancji niebezpiecznej (SDS, Safety Data Sheet) jest dostępna na stronie www.cepheid.com lub www.cepheidinternational.com

Centrum wsparcia klienta firmy Cepheid
Oddział w USA (888) 838-3222, 2 opcje techsupport@cepheid.com
Oddział w Europie +33 563 82 53 19 support@cepheidurope.com

Przed rozpoczęciem procedury pozostawić poniższe składniki na 20 minut do osiągnięcia temperatury pokojowej (20°C – 30°C)

- próbka krwi
- kartridż
- odczynnik do przygotowania próbek



<p>1 Wyjąć próbkę krwi pełnej z EDTA i odczynnik do przygotowania próbki z lodówki. Umieścić próbkę krwi z EDTA na wytrząsarce lub odwrócić 8 razy przed pobraniem próbki.</p>	<p>2 Krótko wirować odczynnik proteinazy K (PK). Dodać 100 µl odczynnik PK do próbki stożkowej o poj. 50 ml. Następnie, do tej samej próbki stożkowej o poj. 50 ml, dodać 4 ml dobrze wymieszanej krwi pełnej z EDTA. Mieszać w mieszadle typu Vortex przez 3 s i inkubować przez 1 min w temperaturze pokojowej.</p>	<p>3 Do tej samej próbki dodać 2,5 ml odczynnik do li zy (LY), mieszać w mieszadle typu Vortex przez 10 s i inkubować przez 5 min w temperaturze pokojowej. Ponownie wymieszać w mieszadle typu Vortex przez 10 s i inkubować 2-gi raz przez 5 min. Wymieszać stukając 10 razy w próbkę.</p>	<p>4 Przenieść 1 ml preparatu li zatu do nowej próbki stożkowej o poj. 50 ml. Zachować pozostałą część li zatu do ewentualnego ponownego testu.</p>	<p>5 Do nowej próbki stożkowej zawierającej wcześniej przygotowany li zat dodać 1,5 ml odczynnik do li zy (LY). Mieszać w mieszadle typu Vortex przez 10 s i inkubować przez 10 min w temperaturze pokojowej.</p>	<p>6 Do tej samej próbki stożkowej dodaje 2 ml bezwodnego alkoholu etylowego. Mieszać w mieszadle typu Vortex przez 10 s i odstawić. Wyrzucić pozostałości odczynnik PK lub LY.</p>
<p>7 Otworzyć wieczko testowego kartridża Xpert.</p>	<p>8 Przenieść całą zawartość ampulki z odczynnikiem do przemywania do komory na odczynnik do przemywania (z małym otworem).</p>	<p>9 Przenieść za pomocą pipety całą zawartość gotowego li zatu z próbki stożkowej.</p>	<p>10 Przenieść całą zawartość (~4,5 ml) przygotowanej próbki do komory na próbkę.</p>	<p>11 Zamknąć pokrywę kartridża Xpert.</p>	<p>12 Rozpocząć test w czasie określonym w ulocie informacyjnej.</p>

© 2015-2023 Cepheid. Wszelkie prawa zastrzeżone.

CE IVD Do diagnostyki *in vitro*

Wyrób medyczny przeznaczony do diagnostyki *in vitro*. Produkt może nie być dostępny we wszystkich krajach. Produkt nie jest dostępny w Stanach Zjednoczonych.

301 4054 PL, Ver. E July 2023



Procedura powtórzenia testu w przypadku wyniku BŁĄD (ERROR) (kod 2008) lub NIEWAŻNY (INVALID) (typ 2)

- Służ y do pow tarzania testów w przypadku próbek, w których poziom y transkryptów zmutowanego genu NPM1 i/lub genu ABL są poniżej prawidłowej minimalnej wartości Ct ($Ct > 0$ i $Ct < 6$) i/lub w przypadku przekroczenia wartości granicznej ciśnienia.

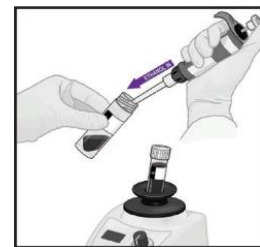
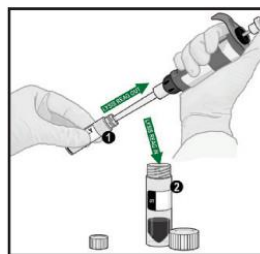
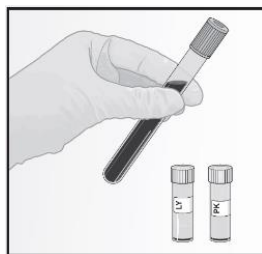
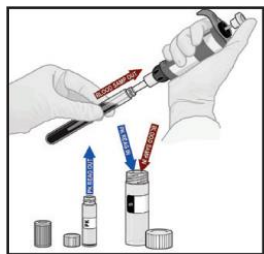
Procedura powtórzenia testu w przypadku wyniku BŁĄD (ERROR) (kod 2008) lub NIEWAŻNY (INVALID) (typ 2) — dostępna wystarczająca ilość krwi

1. Na dno nowej probówki stożkowej o pojemności 50 ml dodać 100 µl proteinazy K (PK). Odwrócić probówkę do pobierania krwi z EDTA 8 razy bezpośrednio przed pipetowaniem, aby próbka krwi została dobrze wymieszana.

2. Dodać 250 µl próbki krwi i 3,75 ml PBS (pH 7,4, dostarczany przez użytkownika). Wymieszać próbkę w wytrząsacze typu vortex z maksymalną prędkością w trybie ciągłym przez 3 sekundy. Inkubować w temperaturze pokojowej przez 1 minutę.

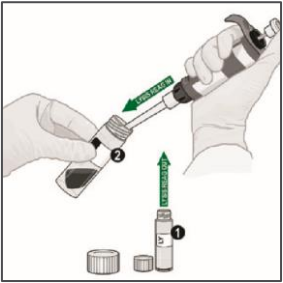
3. Do tej samej probówki dodać 2,5 ml odczynnika do lizy (LY). Wymieszać próbkę w wytrząsacze typu vortex z maksymalną prędkością w trybie ciągłym przez 10 sekund. Inkubować w temperaturze pokojowej przez 5 minut. Wymieszać próbkę w wytrząsacze typu vortex z maksymalną prędkością w trybie ciągłym przez 10 sekund. Inkubować w temperaturze pokojowej przez 5 minut. Wymieszać próbkę, stukając 10 razy w dno probówki. Przenieść 1 ml przygotowanego lizatu do nowej probówki stożkowej o pojemności 50 ml.

4. Do tej samej probówki stożkowej dodać 1,5 ml zachowanego odczynnika do lizy (LS). Wymieszać próbkę w wytrząsacze typu vortex z maksymalną prędkością w trybie ciągłym przez 10 sekund. Inkubować w temperaturze pokojowej przez 10 minut.



Procedura powtórzenia testu w przypadku wyniku BŁĄD (ERROR) (kod 2008) lub NIEWAŻNY (INVALID) (typ 2) — dostępna wystarczająca ilość kw i (ciąg dalszy)

5. Do tej samej probówki stożkowej dodać 2 ml bezwodnego alkoholu etylowego o czystości ciodczynnika do analiz (dostarczany przez użytkownika).



6. Wymieszać próbkę w wytrząsacze typu vortex z maksymalną prędkością w trybie ciągłym przez 10 sekund. Odstawić.



7. Wyjąć kartridż z kartonowego opakowania.

8. Sprawdzić kartridż pod kątem uszkodzeń. W razie zaobserwowania uszkodzenia nie używać kartridża.

9. Otworzyć wieczko kartridża. Przenieść całą zawartość ampułki z odczynnikami do przemywania (1) do komory na odczynnik do przemywania (z małym otworem).

10. Za pomocą pipety przenieść całą przygotowaną próbkę do komory na próbkę (duży otwór).

11. Zamknąć wieczko kartridża Xpert®.

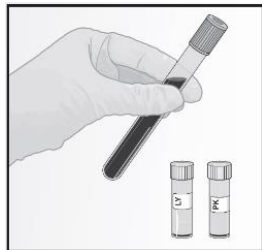
12. Rozpocząć test w czasie określonym w ulocie informacyjnej.

Procedura powtórzenia testu w przypadku wyniku **BŁĄD (ERROR)** (kod 2008) lub **NIEWAŻNY (INVALID) (typ 2)** — lizat

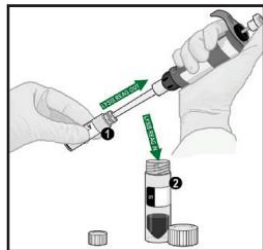
- Jeśli lizachowany lizat jest przechowywany w stanie zamrożonym, przed użyciem należy go doprowadzić do temperatury pokojowej.
- Jeśli lizachowany lizat jest przechowywany w lodówce, przed użyciem należy poczekać, aż osiągnie on temperaturę pokojową.

Wymieszać próbkę w wytrząsarce typu vortex z maksymalną prędkością w trybie ciągłym przez 10 sekund i odstawić próbkę na 3 minuty do zniknięcia pęcherzyków powietrza, aby lizat został dobrze wymieszany.

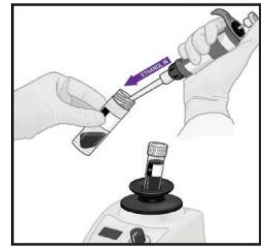
1. Na dno nowej probówki stożkowej o pojemności 50 ml dodać 100 µl proteiny K (PK).



2. Do probówki zawierającej proteinazę K dodać 60 µl zachowanego lizatu. Wymieszać próbkę w wytrząsarce typu vortex z maksymalną prędkością w trybie ciągłym przez 3 sekundy. Inkubować w temperaturze pokojowej przez 1 minutę.

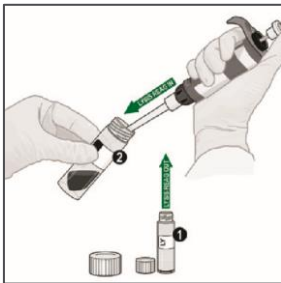


3. Do nowej probówki stożkowej zawierającej lizat dodać 2,5 ml odczynnika do lizy (LY). Wymieszać próbkę w wytrząsarce typu vortex z maksymalną prędkością w trybie ciągłym przez 10 sekund. Inkubować w temperaturze pokojowej przez 5 minut. Wymieszać próbkę w wytrząsarce typu vortex z maksymalną prędkością w trybie ciągłym przez 10 sekund. Inkubować w temperaturze pokojowej przez 5 minut.



Procedura powtórzenia testu w przypadku wyniku BŁĄD (ERROR) (kod 2008) lub NIEWAŻNY (INVALID) (typ 2) — lizat (ciąg dalszy)

4. Do tej samej probówki stożkowej dodać 2 ml bezwodnego alkoholu etylowego o czystości odczynnika do analiz (dostarczany przez użytkownika).



5. Wymieszać próbkę w wytrzymałym typie vortex z maksymalną prędkością w trybie ciągłym przez 10 sekund. Odstawić.



6. Otworzyć wieczko kartridża. Przenieść całą zawartość ampułki z odczynnikiem do przemywania (1) do komory na odczynnik do przemywania (z małym otworem).

7. Za pomocą pipety przenieść całą przygotowaną próbkę do komory na próbkę (z dużym otworem).

8. Zamknąć wieczko kartridża Xpert®.

9. Rozpocząć test w czasie określonym w ulotce informacyjnej.

Procedury powtórzenia testu

1



Wyrzucić zużyty kartridż. Postępować zgodnie z wytycznymi bezpieczeństwa placówki użytkownika w zakresie usuwania kartridżów.

2



Informacje dotyczące procedury powtórzenia testu typu 1 i typu 2 zawiera instrukcja użytkownika.

Test można powtórzyć przy użyciu pozostałych próbek w i lub zachowanego lizatu.

3



Użyć nowego kartridża.

Przetworzyć próbkę zgodnie z instrukcją użytkownika.

4



Przeprowadzić test w systemie.

Wsparcie techniczne

- Przed skontaktowaniem się z Centrum wsparcia klienta firmy Cepheid należy przygotować następujące informacje:
 - Nazwa produktu
 - Numer serii
 - Numer seryjny systemu
 - Komunikaty o błędach (jeśli występują)
 - Wersja oprogramowania
- Skargę należy zgłosić online, korzystając z następującego łącza:
<http://www.cephheid.com/en/support>: *Utworzyć zgłoszenie dla wsparcia technicznego*



Dziekujem y

www.Cepheid.com