

# Xpert<sup>®</sup> Factor II & Factor V

**REF** GXFIIFV-10

For Information Only - Not a Controlled Copy

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

Cepheid<sup>®</sup>, the Cepheid logo, GeneXpert<sup>®</sup> and Xpert<sup>®</sup> are trademarks of Cepheid.

Windows<sup>®</sup> is a trademark of Microsoft Corporation.

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

**Copyright © Cepheid 2020. All rights reserved.**

## **Oświadczenia o znakach towarowych, patentach i prawach autorskich**

Cepheid<sup>®</sup>, logo Cepheid, GeneXpert<sup>®</sup> i Xpert<sup>®</sup> są znakami towarowymi firmy Cepheid.

Windows<sup>®</sup> jest znakiem towarowym firmy Microsoft Corporation.

NABYWCA TEGO PRODUKTU UZYSKUJE NIEZBYWALNE PRAWO DO UŻYWANIA TEGO PRODUKTU ZGODNIE Z NINIEJSZĄ ULOTKĄ INFORMACYJNĄ. NABYWCA NIE UZYSKUJE ŻADNYCH INNYCH PRAW W SPOSÓB WYRAŹNY, DOROZUMIANY LUB PRZEZ ESTOPPEL. PONADTO NABYWCA TEGO PRODUKTU NIE UZYSKUJE ŻADNYCH PRAW DO ODSPRZEDAŻY TEGO PRODUKTU.

**Copyright © Cepheid 2020. Wszelkie prawa zastrzeżone.**



Cepheid  
904 Caribbean Drive  
Sunnyvale, CA 94089  
USA

# Xpert<sup>®</sup> Factor II & Factor V

Do badań diagnostycznych *in vitro*

## 1 Nazwa zastrzeżona

Xpert<sup>®</sup> FII & FV

## 2 Nazwa powszechna

Test Xpert Factor II & Factor V

Xpert Factor II & Factor V

## 3 Przeznaczenie

Xpert<sup>®</sup> Factor II & Factor V to test diagnostyczny *in vitro* do genotypowania metodą jakościową umożliwiającą wykrywanie alleli czynnika II i czynnika V w próbkach krwi pełnej z antykoagulantem cytrynianem sodu lub EDTA. Test jest wykonywany z użyciem oprogramowania systemu GeneXpert<sup>®</sup> Dx firmy Cepheid w wersji 4.0 lub nowszej. Ten test zapewnia wyniki dla mutacji genu czynnika II (G20210A) i mutacji Leiden genu czynnika V (G1691A), ułatwiając postawienie diagnozy w przypadku osób z podejrzeniem trombofilii.

## 4 Podsumowanie i objaśnienie

Związek mutacji genu czynnika II (G20210A) i mutacji Leiden genu czynnika V (G1691A) ze zwiększonym ryzykiem wystąpienia zakrzepicy żył jest dobrze udokumentowany.<sup>1, 2, 3, 4</sup> Wariant c.\*97G>A genu czynnika II był wcześniej oznaczany jako G20210A lub 20210G>A4 i jest powszechnie nazywany protrombiną lub, jak w przypadku testu Xpert Factor II & Factor V, czynnikiem II (G20210A). Mutacja genu czynnika II (G20210A) odnosi się do tranzycji G do A w pozycji 20210 nukleotydu w niepodlegającym translacji regionie 3' genu i jest powiązana ze zwiększonymi poziomami protrombiny w osoczu.

Wariant c.1601G>A (p.Arg534Gln) genu czynnika V był wcześniej oznaczany jako G1691A lub Arg506Gln i jest powszechnie nazywany mutacją Leiden genu czynnika V lub FVL<sup>5</sup> lub, jak w przypadku testu Xpert Factor II & Factor V, czynnikiem V (G1691A). Mutacja Leiden genu czynnika V (G1691A) odnosi się do tranzycji G do A w pozycji 1691 nukleotydu genu czynnika V, powodującej zastąpienie aminokwasu argininy glutaminą w białku czynnika V, co prowadzi do odporności na cięcie aktywowanym białkiem C (APC).

Mutacja genu czynnika II (G20210A) i mutacja Leiden genu czynnika V (G1691A) występują w odpowiednio 2% i 5% ogólnej populacji.<sup>6</sup>

## 5 Zasada procedury

System GeneXpert Dx automatyzuje i integruje oczyszczenie próbki, amplifikowanie kwasu nukleinowego i wykrywanie sekwencji docelowej w próbkach krwi pełnej z użyciem testów wykorzystujących reakcję łańcuchową polimerazy w czasie rzeczywistym (PCR). System składa się z aparatu, komputera, ręcznego skanera kodów kreskowych oraz wstępnie zainstalowanego oprogramowania umożliwiających wykonywanie badań i wyświetlanie wyników. System wymaga stosowania jednorazowych kartridży, które zawierają odczynniki do reakcji PCR oraz w których odbywa się reakcja PCR. Ponieważ kartridże są samowystarczalne, ryzyko zanieczyszczenia krzyżowego między próbkami jest wyeliminowane. Pełny opis systemu można znaleźć w *instrukcji obsługi systemu GeneXpert Dx*.

Test Xpert Factor II & Factor V zawiera odczynniki umożliwiające wykrywanie normalnych i zmutowanych alleli czynnika II i czynnika V w próbkach krwi pełnej z antykoagulantem cytrynianem sodu lub EDTA. Każdy kartridż testu zawiera również kontrolę sondy (PCC), która weryfikuje nawadnianie odczynników, napełnienie próbki do PCR w kartridżu, integralność sondy i stabilność barwnika.

Startery i sondy testu Xpert Factor II & Factor V określają genotyp genu czynnika II (w pozycji 20210) i/lub genu czynnika V (w pozycji 1691).

## 6 Odczynniki

### 6.1 Materiały dostarczone



Zestaw testu Xpert Factor II & Factor V zawiera odczynniki w ilości wystarczającej do przetworzenia 10 próbek lub próbek kontroli jakości.

Zestaw zawiera następujące elementy:

<b>Kartridże testu Xpert Factor II &amp; Factor V ze zintegrowanymi komorami reakcyjnymi</b>	<b>10</b>
<b>Kulka 1 i kulka 2 (liofilizowane)</b>	<b>Po 1 na kartridż</b>
<b>Odczynnik 1</b>	<b>3,0 ml na kartridż</b>
<b>Odczynnik 2 (chlorowodorek guanidyny)</b>	<b>3,0 ml na kartridż</b>
<b>Płyta CD</b>	<b>1 na zestaw</b>
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Pliki definicji testu (ADF)</li> <li>• Instrukcja importowania pliku ADF do oprogramowania GeneXpert</li> <li>• Instrukcja użycia (ulotka informacyjna)</li> </ul>	

#### Uwaga

Karty charakterystyki substancji niebezpiecznej (SDS) są dostępne na stronie internetowej [www.cepheid.com](http://www.cepheid.com) lub [www.cepheidinternational.com](http://www.cepheidinternational.com) na karcie **WSPARCIE (SUPPORT)**.

#### Uwaga

Albumina surowicy bydłowej (BSA) zawarta w kulkach w tym produkcie została uzyskana i wytworzona wyłącznie z osocza wołowego pochodzącego z USA. Zwierząt nie karmiono białkiem pochodzącym od przeżuwaczy ani od innych zwierząt; zwierzęta przebadano zarówno przed ubojem, jak i po nim. Podczas przetwarzania nie nastąpiło wymieszanie materiału z innymi materiałami pochodzącymi od zwierząt.

## 7 Przechowywanie i obsługa



- Kartridże testu Xpert Factor II & Factor V należy przechowywać w temperaturze 2–28 °C.
- Nie używać kartridży po upływie daty ważności.
- Kartridż można otworzyć dopiero wtedy, gdy użytkownik będzie gotowy do wykonania badania.
- Kartridża i odczynników należy użyć w ciągu 30 minut od momentu otwarcia wieczka kartridża.

## 8 Materiały wymagane, ale niedostarczone

- System GeneXpert Dx (numer katalogowy zależy od konfiguracji): aparat GeneXpert, komputer, skaner kodów kreskowych i instrukcja obsługi systemu GeneXpert Dx.

#### Uwaga

Numer katalogowy systemu GeneXpert Dx zależy od konfiguracji. Aby uzyskać informacje dotyczące wybranej konfiguracji i odpowiedniego numeru katalogowego, należy się skontaktować z firmą Cepheid.

- System GeneXpert Dx: oprogramowanie w wersji 4.0 lub nowszej.
- Pipeta z końcówkami z filtrem aerozolowym do przenoszenia 50 µl próbek krwi z antykoagulantem cytrynianem sodu lub EDTA.
- HemosIL FII & FV DNA Control, nr kat. 0020003500.

## 9 Ostrzeżenia i środki ostrożności



- Wszystkie próbki biologiczne, w tym użyte kartridże, należy traktować jako mogące przenosić czynniki zakaźne. Ponieważ często niemożliwe jest określenie, która z próbek biologicznych może być zakaźna, wszystkie należy obsługiwać z zachowaniem standardowych środków ostrożności. Wytyczne dotyczące obsługi próbek można uzyskać w amerykańskiej agencji Centers for Disease Control and Prevention<sup>7</sup> oraz w instytucie Clinical and Laboratory Standards Institute<sup>8</sup>.
- Przestrzegać procedur bezpieczeństwa obowiązujących w placówce w zakresie pracy z substancjami chemicznymi i obsługi próbek biologicznych.
- Kartridży należy użyć przed upływem daty ważności wskazanej na zestawie.
- Nie wolno otwierać wieczka kartridża testu Xpert Factor II & Factor V w celu innym niż dodanie próbki.
- Nie używać kartridża, jeśli po dodaniu próbki został on upuszczony lub wstrząśnięty.
- Nie używać kartridża, jeśli jego komora reakcyjna jest uszkodzona (np. wygięta lub pęknięta).
- Każdy jednorazowy kartridż testu Xpert Factor II & Factor V służy do wykonania jednego badania. Nie używać ponownie zużytych kartridży.
- Próbki biologiczne, wyroby do przenoszenia i użyte kartridże należy traktować jako mogące przenosić czynniki zakaźne i wymagające zachowania standardowych środków ostrożności. Należy przestrzegać obowiązujących w placówce procedur dotyczących odpadów środowiskowych w zakresie odpowiedniego usuwania użytych kartridży i nieużytych odczynników. Te materiały mogą stanowić niebezpieczne odpady chemiczne, których usuwanie musi się odbywać zgodnie z określonymi krajowymi lub regionalnymi przepisami dotyczącymi usuwania. Jeśli krajowe lub regionalne przepisy nie regulują kwestii dotyczących odpowiedniego usuwania, wówczas próbki biologiczne i użyte kartridże należy usuwać zgodnie z wytycznymi Światowej Organizacji Zdrowia (World Health Organization, WHO) dotyczącymi obsługi i usuwania odpadów medycznych.
- Zestaw testu Xpert Factor II & Factor V należy przechowywać w temperaturze 2–28 °C.
- Wieczko kartridża można otworzyć dopiero wtedy, gdy użytkownik będzie gotowy do wykonania badania.
- Jeśli ciśnienie wewnętrzne wzrośnie powyżej granicy wstępnie ustawionej przez producenta, wówczas nastąpi automatyczne przerwanie serii i zgłoszenie wyniku **BŁĄD (ERROR)**.



## 10 Zagrożenia chemiczne<sup>9, 10</sup>

- Piktogramy GHS ONZ określające rodzaj zagrożenia:
- Hasło ostrzegawcze: UWAGA
- **Zwroty GHS ONZ wskazujące rodzaj zagrożenia**
  - Może działać szkodliwie po połknięciu
  - Działa drażniąco na skórę
  - Działa drażniąco na oczy
- **Zwroty GHS ONZ wskazujące środki ostrożności**
  - **Zapobieganie**
    - Dokładnie umyć po użyciu.
    - Stosować rękawice ochronne/odzież ochronną/ochronę oczu/ochronę twarzy
  - **Reagowanie**
    - W PRZYPADKU KONTAKTU ZE SKÓRĄ: Umyć dużą ilością wody z mydłem.
    - Zastosować określone instrukcje (patrz informacje uzupełniające dotyczące pierwszej pomocy).
    - W przypadku wystąpienia podrażnienia skóry: Zasięgnąć porady/zgłosić się pod opiekę lekarza.
    - Zanieczyszczoną odzież zdjąć i wyprać przed ponownym użyciem.
    - W PRZYPADKU DOSTANIA SIĘ DO OCZU: Ostrożnie płukać wodą przez kilka minut. Wyjąć soczewki kontaktowe, jeżeli są i można je łatwo usunąć. Kontynuować płukanie.
    - W przypadku utrzymywania się działania drażniącego na oczy: Zasięgnąć porady/zgłosić się pod opiekę lekarza.
    - W przypadku złego samopoczucia skontaktować się z OŚRODKIEM ZATRUĆ lub z lekarzem.

## 11 Pobieranie, transportowanie i przechowywanie próbek



Aby uzyskać odpowiednią próbkę, należy postępować zgodnie z instrukcjami w niniejszym punkcie.

- Wyłącznie wyszkoleni i posiadający odpowiednie uprawnienia pracownicy służby zdrowia powinni pobierać krew do probówek z antykoagulantem EDTA lub cytrynianem sodu.
- Nie odwirowywać ani nie zwiększać stężenia próbki krwi poprzez usuwanie osocza.
- Próbkę krwi przechowywaną w temperaturze pokojowej (22–28 °C) należy przetworzyć w ciągu 24 godzin. Próbki przechowywane przez czas dłuższy niż 24 godziny należy przechowywać w temperaturze 2–8 °C. Próbka krwi zachowuje stabilność przez maksymalnie 15 dni w temperaturze 2–8 °C. Próbki krwi można również przechowywać w temperaturze –20 °C lub –80 °C przez maksymalnie 3 miesiące. Zaleca się stosowanie probówek przeznaczonych do przechowywania w zamrażarce.

### Uwaga

Zamrożona próbka krwi powinna zostać całkowicie rozmrożona w temperaturze pokojowej. W przypadku próbek krwi nie zaleca się wykonywania więcej niż jednego cyklu zamrożenia/rozmrożenia.

- Przed przeniesieniem do kartridża próbkę należy wymieszać, odwracając ją 5 razy.

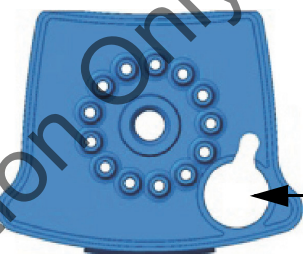
## 12 Procedura

### 12.1 Przygotowywanie kartridża

**Ważne** Rozpocząć badanie w ciągu 15 minut od momentu dodania próbki do kartridża.

Aby dodać próbkę do kartridża:

1. Wyjąć kartridż z zestawu. Nie jest konieczne doprowadzenie kartridża do temperatury pokojowej przed użyciem.
2. Wymieszać próbkę, odwracając probówkę co najmniej 5 razy, aby zapewnić jednorodność próbki.
3. Otworzyć wieczko kartridża. Przy pomocy pipety z końcówką z filtrem aerozolowym przenieść 50 µl krwi z antykoagulantem cytrynianem sodu lub EDTA na dolną ściankę otworu na próbkę kartridża testu Xpert Factor II & Factor V. Patrz Ilustracja 1.
4. Zamknąć wieczko kartridża.



Komora na próbkę  
(duży otwór)

Ilustracja 1. Kartridż testu Xpert Factor II & Factor V (widok z góry)

## 12.2 Rozpoczynanie badania

**Ważne** Przed rozpoczęciem badania należy się upewnić, że pliki definicji testu (ADF) Xpert FII, Xpert FV i Xpert FII & FV Combo zostały zaimportowane do oprogramowania. Pliki definicji testu (ADF) są dostępne na dostarczonej płycie CD.

Niniejszy punkt zawiera opis podstawowych kroków umożliwiających wykonanie badania. Szczegółowe instrukcje można znaleźć w *instrukcji obsługi systemu GeneXpert Dx*.

1. Włączyć aparat GeneXpert Dx, a następnie włączyć komputer. Oprogramowanie GeneXpert zostanie uruchomione automatycznie.
2. Zalogować się do oprogramowania systemu GeneXpert Dx, podając nazwę użytkownika i hasło.
3. W oknie systemu GeneXpert Dx kliknąć **Nowe badanie (Create Test)**. Zostanie wyświetlone okno Nowe badanie (Create Test).
4. Zeskanować kod kreskowy na kartridżu.
5. W polu Identyfikator próbki (Sample ID) wprowadzić identyfikator próbki. Upewnić się, że wprowadzony identyfikator próbki jest prawidłowy. Ewentualnie można zeskanować kod kreskowy próbki. Identyfikator próbki jest powiązany z wynikami badania i wyświetlany w oknie Wyświetlanie wyników (View Results) oraz na wszystkich raportach.

Name	Version
Xpert FV	1
Xpert FII & FV Combo	1
Xpert FV	1
Xpert FII	1

Ilustracja 2. Okno Nowe badanie (Create Test)

6. W menu rozwijanym **Wybór testu (Select Assay)** wybrać odpowiedni test do wykonania.
7. Kliknąć **Rozpocznij badanie (Start Test)**. Wpisać hasło w wyświetlonym oknie dialogowym.
8. Otworzyć drzwiczki modułu aparatu z migającą zieloną kontrolką i załadować kartridż.
9. Zamknąć drzwiczki. Badanie zostanie rozpoczęte, a zielona kontrolka przestanie migać. Po zakończeniu badania kontrolka przestanie świecić.
10. Kiedy system zwolni blokadę drzwiczek, otworzyć drzwiczki modułu i wyjąć kartridż.
11. Wyrzucić użyte kartridże do odpowiedniego pojemnika na odpady, zgodnie ze standardową praktyką obowiązującą w placówce.

## 13 Wyświetlanie i drukowanie wyników

Szczegółowe instrukcje dotyczące wyświetlania i drukowania wyników można znaleźć w *instrukcji obsługi systemu GeneXpert Dx*.

**Uwaga** W przypadku raportowania wyników z użyciem systemu LIS należy się upewnić, że wyniki w systemie LIS są zgodne z wynikami w aparacie dla identyfikatora pacjenta; jeśli wyniki nie są zgodne, wówczas należy raportować wyłącznie wyniki w aparacie.

## 14 Kontrola jakości

**CONTROL** Każdy test zawiera kontrolę sondy (PCC).

**Kontrola sondy (PCC)** — przed rozpoczęciem reakcji PCR system GeneXpert Dx mierzy sygnał fluorescencji z sond w celu monitorowania nawadniania kulek, napełnienia komory reakcyjnej, integralności sondy i stabilności barwnika. Kontrola sondy sprawdza, czy są spełnione przypisane kryteria akceptacji.

**Kontrole zewnętrzne** — kontrola HemosIL FII & FV DNA Control, nr kat. 0020003500, została opracowana i zatwierdzona pod kątem programu zewnętrznej kontroli jakości testu Xpert FII & FV.

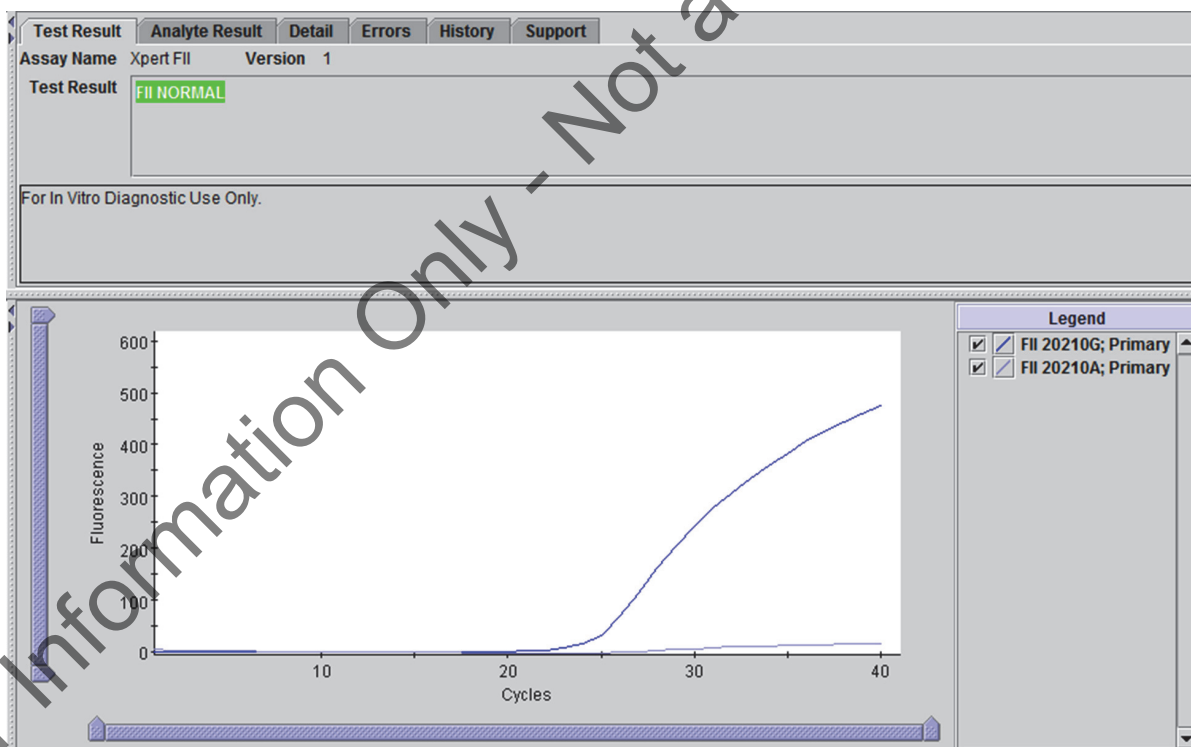
Ewentualnie próbki krwi pełnej (z antykoagulantem cytrynianem sodu lub EDTA) normalne, heterozygotyczne lub homozygotyczne pod kątem mutacji genu czynnika II / czynnika V mogą być stosowane do szkoleń, testowania biegłości i wykonywania zewnętrznych kontroli jakości testu Xpert Factor II & Factor V. Wymagany jest materiał komórkowy. Nie używać wyekstrahowanego DNA. Kontroli zewnętrznych można używać zgodnie ze stosownymi wymaganiami lokalnych, regionalnych i krajowych organizacji akredytacyjnych.

## 15 Interpretacja wyników

Wyniki są interpretowane przez system GeneXpert Dx na podstawie zmierzonych sygnałów fluorescencji i wbudowanych algorytmów w celu zidentyfikowania genotypów, a następnie wyświetlane w poniższych oknach Wyświetlanie wyników (View Results):

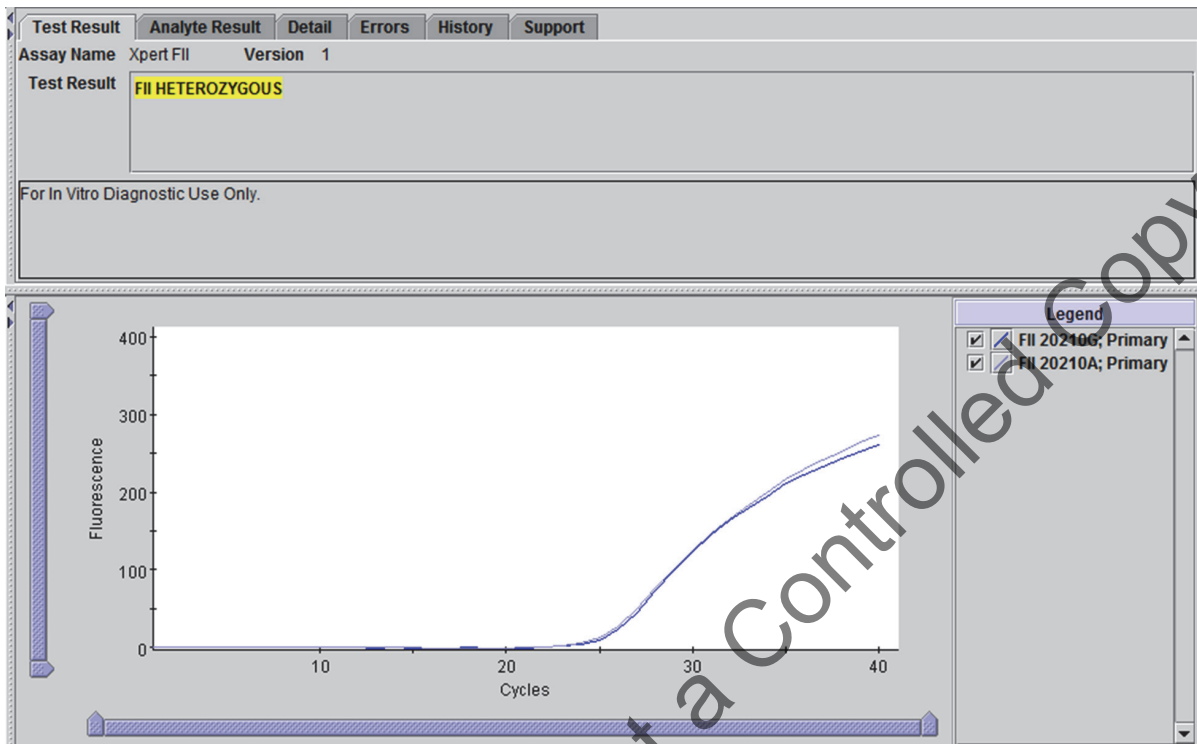
Wynik „NORMALNY (NORMAL)” odnosi się do typu dzikiego (nie wykryto mutacji); wynik „HOMOZYGOTYCZNY (HOMOZYGOUS)” odnosi się do mutacji homozygotycznej (mutację wykryto w obu allelach); wynik „HETEROZYGOTYCZNY (HETEROZYGOUS)” odnosi się do mutacji heterozygotycznej (mutację wykryto w jednym allelu).

Wyniki testu Xpert FII po wybraniu testu typu FII w menu rozwijanym przedstawiają Ilustracja 3 do Ilustracja 5.

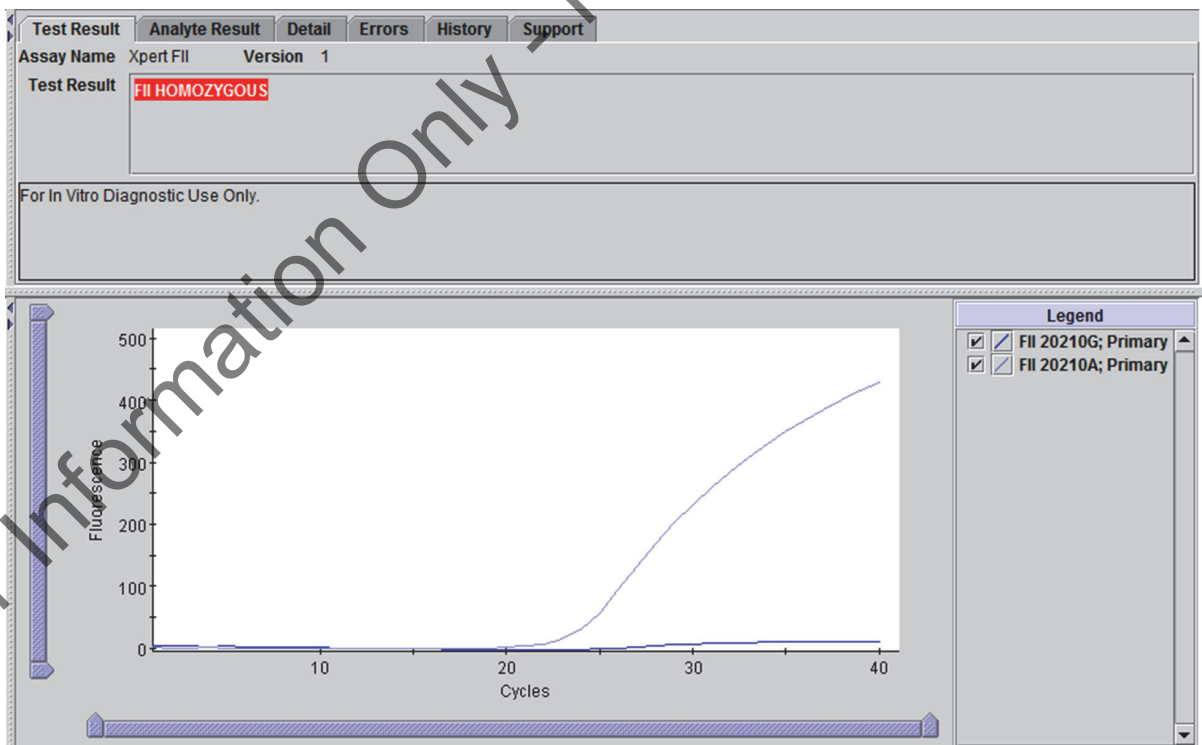


Ilustracja 3. System GeneXpert Dx — okno Wyświetlanie wyników (View Results),  
wynik normalny dla czynnika II



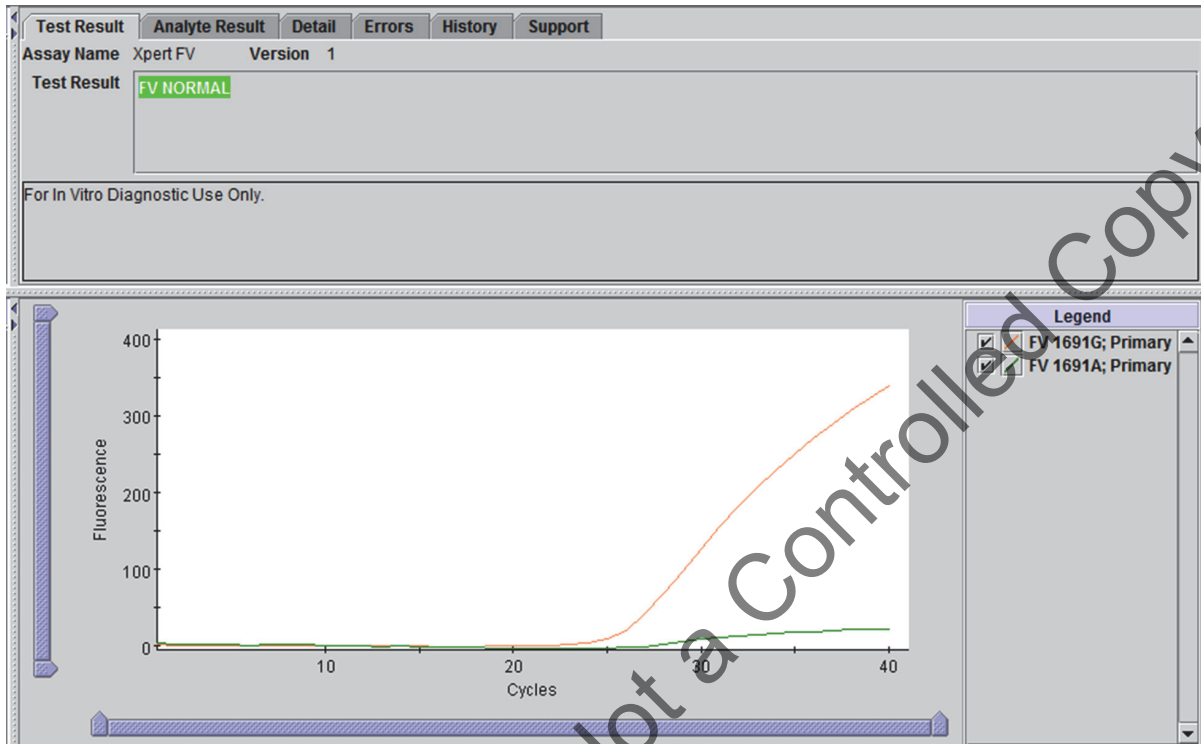


Ilustracja 4. System GeneXpert Dx — okno Wyświetlanie wyników (View Results),  
wynik heterozygotyczny dla czynnika II

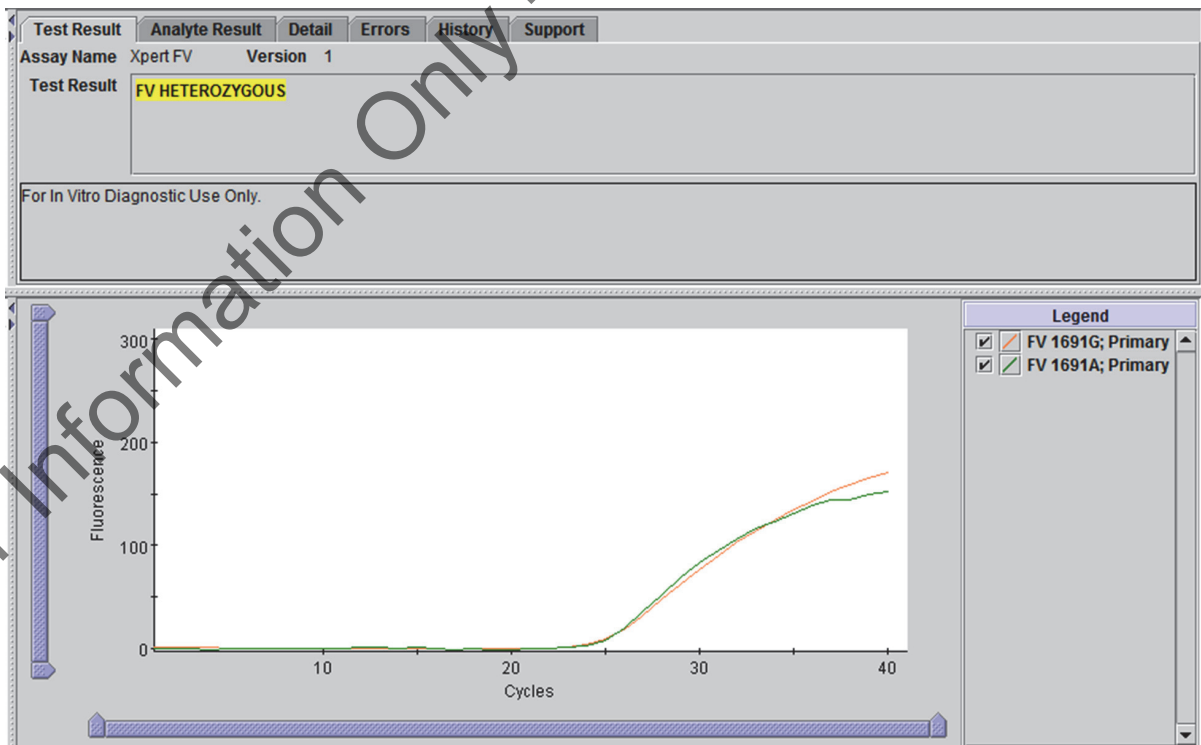


Ilustracja 5. System GeneXpert Dx — okno Wyświetlanie wyników (View Results),  
wynik homozygotyczny dla czynnika II

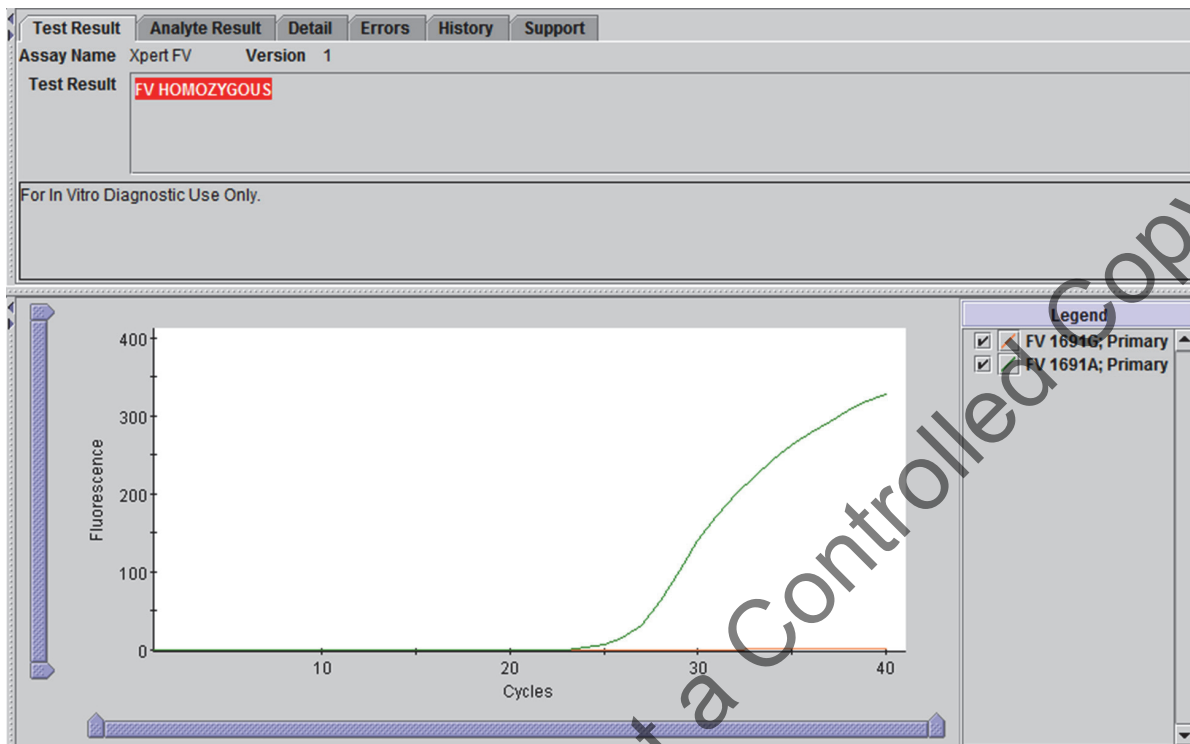
Wyniki testu Xpert FV po wybraniu testu typu FV w menu rozwijanym przedstawiają Ilustracja 6 do Ilustracja 8.



Ilustracja 6. System GeneXpert Dx — okno Wyświetlanie wyników (View Results),  
wynik normalny dla czynnika V

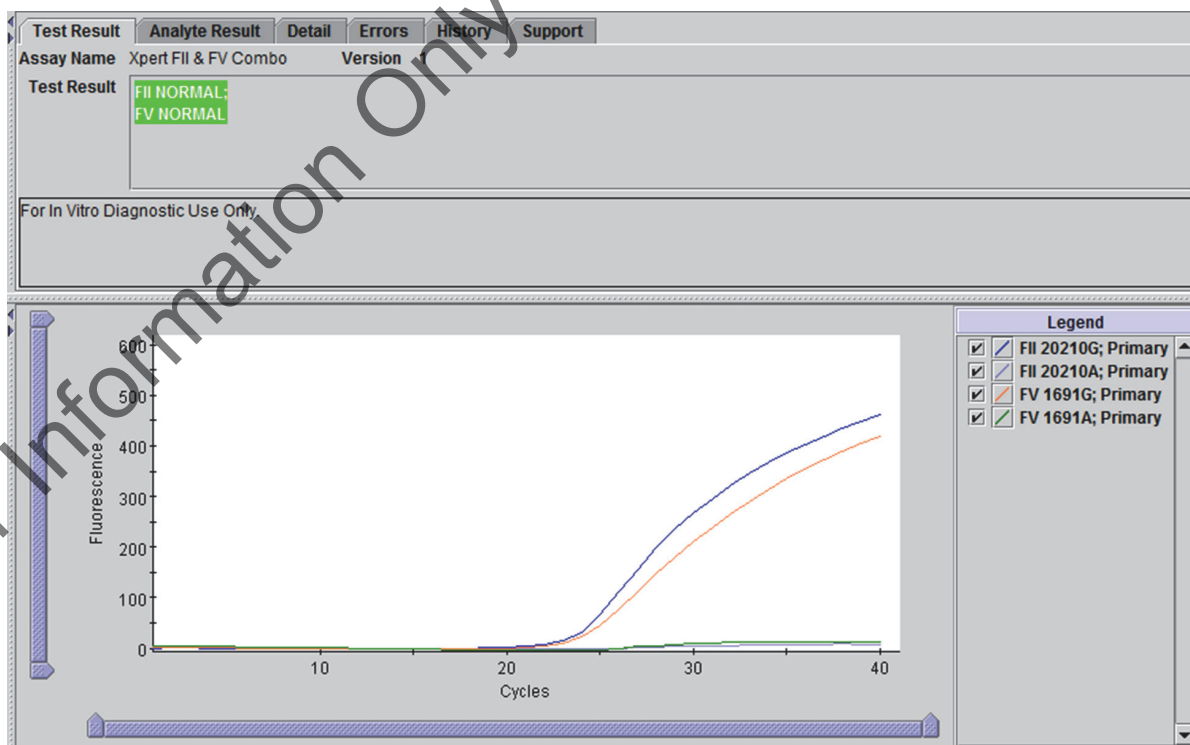


Ilustracja 7. System GeneXpert Dx — okno Wyświetlanie wyników (View Results),  
wynik heterozygotyczny dla czynnika V

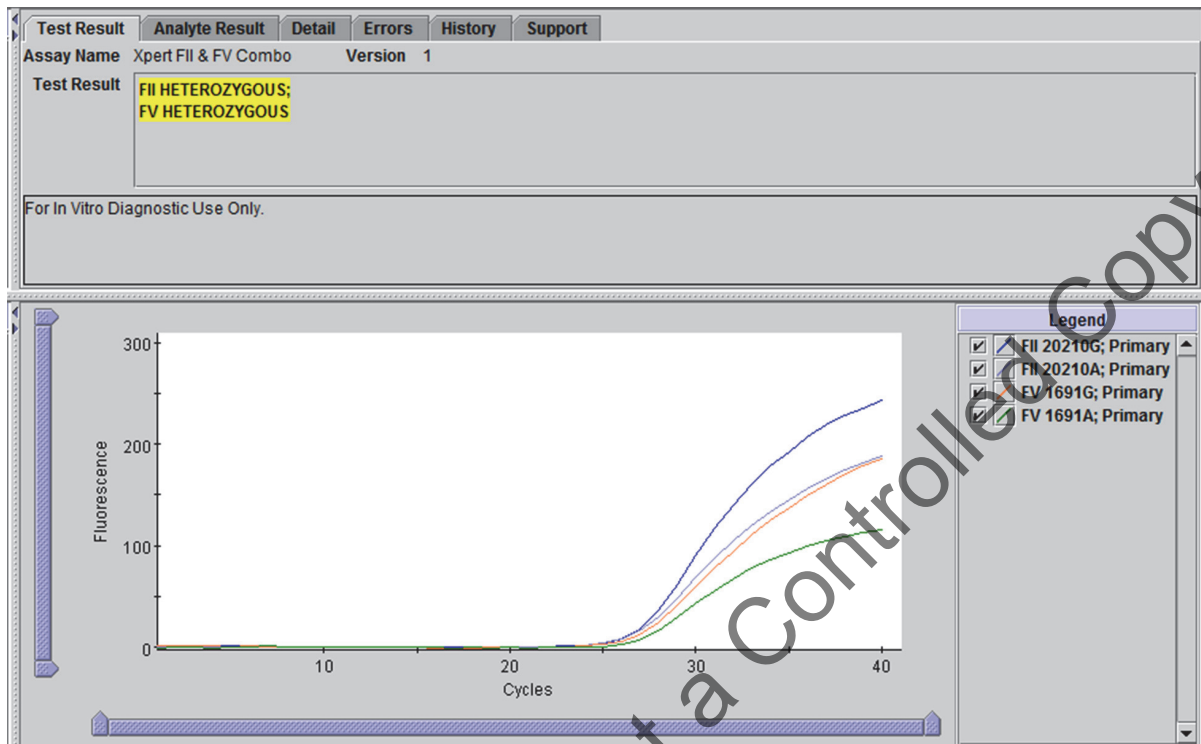


Ilustracja 8. System GeneXpert Dx — okno Wyświetlanie wyników (View Results),  
wynik homozygotyczny dla czynnika V

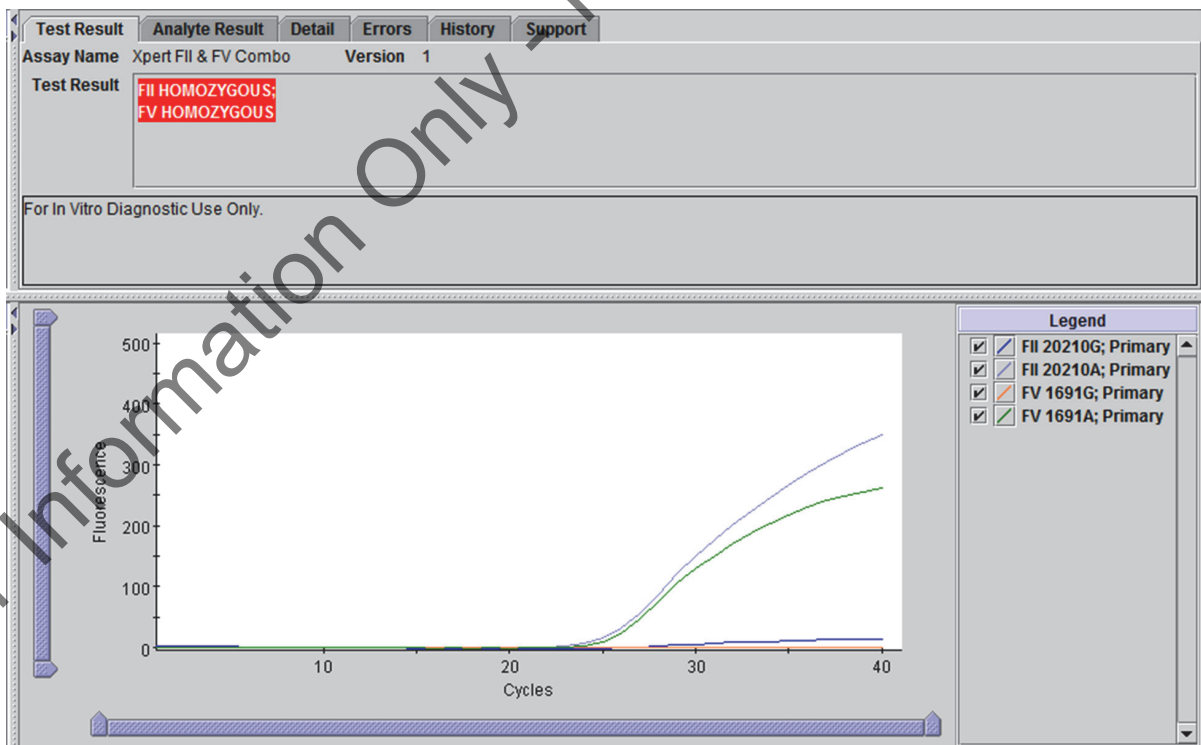
Wyniki testu Xpert FII i FV po wybraniu testu typu FII & FV Combo w menu rozwijanym przedstawiają Ilustracja 9 do Ilustracja 11.



Ilustracja 9. System GeneXpert Dx — okno Wyświetlanie wyników (View Results),  
wynik normalny dla czynnika II i czynnika V



Ilustracja 10. System GeneXpert Dx — okno Wyświetlanie wyników (View Results),  
wynik heterozygotyczny dla czynnika II i czynnika V



Ilustracja 11. System GeneXpert Dx — okno Wyświetlanie wyników (View Results),  
wynik homozygotyczny dla czynnika II i czynnika V

**NIEWAŻNY (INVALID)**

Nie można określić obecności ani nieobecności normalnych i zmutowanych alleli czynnika II / czynnika V; należy powtórzyć badanie zgodnie z poniższymi instrukcjami. Próbkę nie została poprawnie przetworzona lub nastąpiło zahamowanie reakcji PCR.

- **NIEWAŻNY (INVALID)** — nie można określić obecności ani nieobecności normalnych i zmutowanych alleli czynnika II / czynnika V.
- Kontrola sondy — POWODZENIE (PASS): wszystkie wyniki kontroli sondy są poprawne.

**BŁĄD (ERROR)**

Nie można określić obecności ani nieobecności normalnych i zmutowanych alleli czynnika II / czynnika V; należy powtórzyć badanie zgodnie z poniższymi instrukcjami. Kontrola sondy zakończyła się niepowodzeniem i badanie zostało przerwane prawdopodobnie z powodu niewłaściwego napełnienia komory reakcyjnej lub wykrycia błędu dotyczącego integralności sondy. Błędy mogą również być spowodowane przekroczeniem wartości granicznej ciśnienia maksymalnego lub awarią elementu systemu.

- **BŁĄD (ERROR)**
  - Kontrola sondy — NIEPOWODZENIE (FAIL)\*: co najmniej jeden wynik kontroli sondy był niezaliczony.
- \* Jeśli kontrola sondy zakończyła się powodzeniem, błąd został spowodowany awarią elementu systemu.

**BRAK WYNIKU (NO RESULT)**

Nie można określić obecności ani nieobecności normalnych i zmutowanych alleli czynnika II / czynnika V; należy powtórzyć badanie zgodnie z poniższymi instrukcjami. Nie można uzyskać wyniku badania z powodu zgromadzenia niewystarczających danych (taka sytuacja może wystąpić na przykład wtedy, gdy operator zatrzymał badanie będące w toku).

- **BRAK WYNIKU (NO RESULT)**
- Kontrola sondy — NIE DOTYCZY (NA)

**16 Sytuacje, w których należy powtórzyć badanie**

Powtórzyć badanie z użyciem nowego kartridża (nie należy ponownie używać tego samego kartridża) i nowej porcji krwi pełnej z antykoagulantem cytrynianem sodu lub EDTA:

- Wynik **NIEWAŻNY (INVALID)** oznacza, że próbka nie została poprawnie przetworzona lub nastąpiło zahamowanie reakcji PCR.
- Wynik **BŁĄD (ERROR)** oznacza niepowodzenie kontroli sondy i przerwanie badania prawdopodobnie spowodowane niewłaściwym napełnieniem komory reakcyjnej lub wykryciem błędu dotyczącego integralności sondy odczynnika. Błędy mogą również być spowodowane przekroczeniem wartości granicznej ciśnienia maksymalnego lub awarią elementu systemu.
- **BRAK WYNIKU (NO RESULT)** oznacza, że zgromadzono niewystarczające dane. Taka sytuacja może wystąpić na przykład wtedy, gdy operator zatrzymał badanie będące w toku.

**17 Ograniczenia**

- Skuteczność testu Xpert Factor II & Factor V zatwierdzono wyłącznie przy pomocy procedur opisanych w niniejszej ulotce informacyjnej. Modyfikowanie tych procedur może wpłynąć na skuteczność testu. Wyniki testu Xpert Factor II & Factor V należy interpretować z uwzględnieniem innych danych laboratoryjnych i klinicznych dostępnych dla klinicysty.
- Rzadkie mutacje genu czynnika V (A1696G, G1689A i A1692C) i wszelkie dodatkowe polimorfizmy SNP w regionie wiązania sondy mogą spowodować interferencje wykrywania sekwencji docelowej oraz uzyskanie wyniku **NIEWAŻNY (INVALID)**.
- Inne rzadkie mutacje genu czynnika II w regionie wiązania sondy mogą spowodować interferencje wykrywania sekwencji docelowej oraz mogą prowadzić do uzyskania wyniku **NIEWAŻNY (INVALID)** lub fałszywego wyniku mutacji **HOMOZYGOTYCZNY (HOMOZYGOUS)** w przypadku występowania równocześnie z mutacją genu czynnika II c.\*97G>A (G20210A).
- Nie oceniono skuteczności testu Xpert Factor II & Factor V w przypadku próbek pobranych od pacjentów pediatrycznych.
- Błędne wyniki badania mogą być spowodowane niewłaściwym pobraniem, obsługą lub przechowywaniem próbki bądź pomieszaniem próbek. Uważne przestrzeganie instrukcji zawartych w niniejszej ulotce informacyjnej pozwoli uniknąć uzyskania błędnych wyników.

## 18 Substancje interferujące

W przypadku pacjentów leczonych heparyną oraz pacjentów poddawanych transfuzji krwi próbki krwi mogą potencjalnie powodować interferencje reakcji PCR i prowadzić do uzyskania nieważnych lub błędnych wyników.

Badania potencjalnie interferujących substancji wykazały brak inhibicji w przypadku maksymalnie 14,3 jednostki USP/ml heparyny, 16 mg/dl bilirubiny, 250 mg/dl dodanego cholesterolu i 1932 mg/dl triglicerydów całkowitych (lipidów). Nie zaobserwowano inhibicji w przypadku użycia próbek krwi pełnej po jednym cyklu zamrożenia/rozmrózenia (krew hemolizowana). Nie zaobserwowano istotności statystycznej między dopasowanymi próbkami pobranymi do EDTA lub cytrynianu sodu.

## 19 Wartości oczekiwane

Mutacja genu czynnika II (G20210A) i mutacja Leiden genu czynnika V (G1691A) występują w odpowiednio 2% i 5% ogólnej populacji<sup>6</sup>.

## 20 Charakterystyka testu

### 20.1 Skuteczność kliniczna

Charakterystykę testu Xpert Factor II & Factor V określono w wieloośrodkowym badaniu klinicznym w siedmiu ośrodkach, porównując test Xpert Factor II & Factor V z sekwencjonowaniem dwukierunkowym.

Uczestnikami były osoby, których rutynowa opieka wymagała pobierania próbek krwi pełnej w celu badań pod kątem czynnika II i/lub czynnika V. Najpierw badano próbki przy pomocy standardowych metod używanych w każdym uczestniczącym laboratorium, a następnie porcje pobrane do badania przy pomocy testu Xpert Factor II & Factor V w systemie GeneXpert. Nadmiarowy DNA przesłano do laboratorium kontraktowego w celu sekwencjonowania dwukierunkowego.

Skuteczność testu Xpert Factor II & Factor V obliczono w odniesieniu do wyników sekwencjonowania dwukierunkowego.

### 20.2 Wyniki ogólne

#### Test Xpert Factor II & Factor V

Łącznie 1018 próbek badano pod kątem czynnika II przy pomocy testu Xpert Factor II & Factor V i sekwencjonowania dwukierunkowego. Łącznie 1014 próbek badano pod kątem czynnika V przy pomocy testu Xpert Factor II & Factor V i sekwencjonowania dwukierunkowego. Aby uzupełnić liczbę próbek homozygotycznych, sześć próbek ludzkiego DNA genomowego homozygotycznych dla czynnika II i pięć homozygotycznych dla czynnika V również badano przy pomocy testu Xpert Factor II & Factor V i sekwencjonowania dwukierunkowego. Wyniki przedstawia Tabela 1.

Test Xpert Factor II & Factor V wykazał ogólną dokładność na poziomie 99,3% w odniesieniu do sekwencjonowania dwukierunkowego dla czynnika II i czynnika V.

Tabela 1. Skuteczność testu Xpert Factor II & Factor V w porównaniu z sekwencjonowaniem dwukierunkowym

Genotyp	Liczba przebadanych	Liczba prawidłowych wyników w pierwszej serii	Liczba nieważnych <sup>a</sup> wyników w pierwszej serii	Zgodność w pierwszej serii	Liczba prawidłowych wyników po powtórzeniu serii	Liczba nieważnych <sup>a</sup> wyników po powtórzeniu serii	Zgodność po powtórzeniu serii
Czynnik II G20210A							
WT <sup>d</sup>	968	927	41	95,8%	963	5	99,5%
HET	50	48	2	96,0%	48	2	96,0%
HOM	7	7	0	100,0%	7	0	100%
<b>Ogółem</b>	<b>1025<sup>b</sup></b>	<b>982</b>	<b>43</b>	<b>95,8%</b>	<b>1018</b>	<b>7</b>	<b>99,3%</b>
Czynnik V G1691A							
WT	895	860	35	96,1%	889	6	99,3%
HET	114	108	6	94,7%	113	1	99,1%
HOM	12	11	1	91,7%	12	0	100,0%
<b>Ogółem</b>	<b>1021<sup>c</sup></b>	<b>979</b>	<b>42</b>	<b>95,9%</b>	<b>1014</b>	<b>7</b>	<b>99,3%</b>

a. Brak wyników rozbieżnych. Nieważne wyniki odnoszą się do wyników nieokreślonych

b. Wyniki sekwencjonowania dwukierunkowego dla czynnika II były niedostępne dla 4 próbek

c. Wyniki sekwencjonowania dwukierunkowego dla czynnika V były niedostępne dla 8 próbek

d. WT (typ dziki) jest normalny

**Swoistość analityczna**

Aby ocenić swoistość analityczną testu Xpert Factor II & Factor V, poddano syntezie normalne sekwencje genów zawierające ciche polimorfizmy pojedynczego nukleotydu (SNP) w regionie wiązania sondy oraz poza regionem wiązania sondy. Obecność dodatkowych polimorfizmów SNP w regionie wiązania sondy w większości przypadków prowadziła do uzyskania wyniku nieważnego. Jeśli uzyskany wynik był ważny, wówczas genotyp był prawidłowy.

Obecność dodatkowych polimorfizmów SNP poza regionem wiązania sondy prowadziła do uzyskania prawidłowego genotypu.

**Czułość analityczna**

Przeprowadzono badania mające na celu określenie minimalnej i maksymalnej ilości wejściowej próbki pacjenta dla krwi pełnej z antykoagulantem EDTA i z antykoagulantem cytrynianem sodu wymaganej do uzyskania prawidłowego genotypu, tak aby dolna granica 95% przedziału ufności dla oszacowanej ilości umożliwiającej uzyskanie prawidłowego wyniku była większa niż 95%.

Próbki krwi z antykoagulantem EDTA i cytrynianem sodu badano (n = 20) w 8 objętościach w zakresie od 5 µl do 250 µl.

Mimo że przy pomocy testu można badać różne objętości w zakresie od 15 µl do 100 µl, zalecaną objętością próbki jest 50 µl w celu zminimalizowania ryzyka wystąpienia błędów związanych ze zbyt małą i zbyt dużą ilością próbki.

**Odtwarzalność**

Panel 5 próbek, obejmujący jedną próbkę z każdego rodzaju próbek wymienionego poniżej, badano w dwóch powtórzeniach z udziałem dwóch różnych operatorów w ciągu 5 różnych dni w każdym z trzech ośrodków (5 próbek × 2 razy/dzień × 2 operatorów na ośrodek × 5 dni × 3 ośrodki). W każdym z 3 ośrodków wykonujących badania użyto jednego numeru serii zestawów testu Xpert Factor II & Factor V. Testy Xpert Factor II & Factor V wykonywano zgodnie z procedurą testu Xpert Factor II & Factor V. Podsumowanie wyników zawiera Tabela 2 do Tabela 5.

Badany panel:

1. próbka z normalnymi allelami (typu dzikiego) dla czynnika II i czynnika V;
2. próbka heterozygotyczna pod kątem mutacji genu czynnika II (tj. jeden allel zmutowany i jeden allel typu dzikiego dla genu czynnika II) i z normalnymi allelami (typu dzikiego) dla czynnika V;
3. próbka homozygotyczna pod kątem mutacji genu czynnika II (tj. dwa allele zmutowane dla genu czynnika II) i z normalnymi allelami (typu dzikiego) dla czynnika V;
4. próbka z normalnymi allelami (typu dzikiego) dla czynnika II i homozygotyczna pod kątem mutacji genu czynnika V (tj. dwa allele zmutowane dla genu czynnika V);
5. próbka z normalnymi allelami (typu dzikiego) dla czynnika II i heterozygotyczna pod kątem mutacji genu czynnika V (tj. jeden allel zmutowany i jeden allel typu dzikiego dla genu czynnika V).

Podsumowanie wyników według ośrodka przedstawia Tabela 2 i Tabela 3. Nie było statystycznie istotnej różnicy w wynikach między ośrodkami zarówno dla czynnika II (p = 1,000), jak i czynnika V (p = 1,000).

**Tabela 2. Podsumowanie wyników odtwarzalności według ośrodka — czynnik II**

Identyfikator próbki	Ośrodek 1	Ośrodek 2	Ośrodek 3	% łączna zgodność wg próbki
NOR	100% (20/20)	100% (20/20)	100% (20/20)	100% (60/60)
Czynnik II HET / czynnik V NOR	100% (20/20)	100% (20/20)	100% (20/20)	100% (60/60)
Czynnik II HOM / czynnik V NOR	100% (20/20)	100% (20/20)	100% (20/20)	100% (60/60)
Czynnik II NOR / czynnik V HOM	100% (20/20)	100% (20/20)	100% (20/20)	100% (60/60)
Czynnik II NOR / czynnik V HET	100% (20/20)	100% (20/20)	95,0% (19/20) <sup>a</sup>	98,3% (59/60) <sup>a</sup>
% łączna zgodność wg ośrodka	100% (60/60)	100% (60/60)	98,3% (59/60) <sup>a</sup>	99,7% (299/300) <sup>a</sup>

a. Brak wyników rozbieżnych. Jedna próbka miała wynik nieokreślony po powtórzeniu badania.

Tabela 3. Podsumowanie wyników odtwarzalności według ośrodka — czynnik V

Identyfikator próbki	Ośrodek 1	Ośrodek 2	Ośrodek 3	% łączna zgodność wg próbki
NOR	100% (20/20)	100% (20/20)	100% (20/20)	100% (60/60)
Czynnik II HET / czynnik V NOR	100% (20/20)	100% (20/20)	100% (20/20)	100% (60/60)
Czynnik II HOM / czynnik V NOR	100% (20/20)	100% (20/20)	100% (20/20)	100% (60/60)
Czynnik II NOR / czynnik V HOM	100% (20/20)	100% (20/20)	100% (20/20)	100% (60/60)
Czynnik II NOR / czynnik V HET	100% (20/20)	100% (20/20)	95,0% (19/20) <sup>a</sup>	98,3% (59/60) <sup>a</sup>
% łączna zgodność wg ośrodka	100% (60/60)	100% (60/60)	98,3% (59/60) <sup>a</sup>	99,7% (299/300) <sup>a</sup>

a. Brak wyników rozbieżnych. Jedna próbka miała wynik nieokreślony po powtórzeniu badania.

Podsumowanie wyników według operatora przedstawia Tabela 4 i Tabela 5. Nie było statystycznie istotnej różnicy w wynikach między ośrodkami zarówno dla czynnika II ( $p = 1,000$ ), jak i czynnika V ( $p = 1,000$ ).

Tabela 4. Podsumowanie wyników odtwarzalności według operatora — czynnik II

Identyfikator próbki	Ośrodek 1		Ośrodek 2		Ośrodek 3		% łączna zgodność wg próbki
	Operator 1	Operator 2	Operator 1	Operator 2	Operator 1	Operator 2	
NOR	100% (10/10)	100% (10/10)	100% (10/10)	100% (10/10)	100% (10/10)	100% (10/10)	100% (60/60)
Czynnik II HET / czynnik V NOR	100% (10/10)	100% (10/10)	100% (10/10)	100% (10/10)	100% (10/10)	100% (10/10)	100% (60/60)
Czynnik II HOM / czynnik V NOR	100% (10/10)	100% (10/10)	100% (10/10)	100% (10/10)	100% (10/10)	100% (10/10)	100% (60/60)
Czynnik II NOR / czynnik V HOM	100% (10/10)	100% (10/10)	100% (10/10)	100% (10/10)	100% (10/10)	100% (10/10)	100% (60/60)
Czynnik II NOR / czynnik V HET	100% (10/10)	100% (10/10)	100% (10/10)	100% (10/10)	100% (10/10)	90,0% (9/10) <sup>a</sup>	98,3% (59/60) <sup>a</sup>
% łączna zgodność wg operatora	100% (50/50)	100% (50/50)	100% (50/50)	100% (50/50)	100% (50/50)	98,0% (49/50) <sup>a</sup>	99,7% (299/300) <sup>a</sup>

a. Brak wyników rozbieżnych. Jedna próbka miała wynik nieokreślony po powtórzeniu badania.

Tabela 5. Podsumowanie wyników odtwarzalności według operatora — czynnik V

Identyfikator próbki	Ośrodek 1		Ośrodek 2		Ośrodek 3		% łączna zgodność wg próbki
	Operator 1	Operator 2	Operator 1	Operator 2	Operator 1	Operator 2	
NOR	100% (10/10)	100% (10/10)	100% (10/10)	100% (10/10)	100% (10/10)	100% (10/10)	100% (60/60)
Czynnik II HET / czynnik V NOR	100% (10/10)	100% (10/10)	100% (10/10)	100% (10/10)	100% (10/10)	100% (10/10)	100% (60/60)
Czynnik II HOM / czynnik V NOR	100% (10/10)	100% (10/10)	100% (10/10)	100% (10/10)	100% (10/10)	100% (10/10)	100% (60/60)
Czynnik II NOR / czynnik V HOM	100% (10/10)	100% (10/10)	100% (10/10)	100% (10/10)	100% (10/10)	100% (10/10)	100% (60/60)
Czynnik II NOR / czynnik V HET	100% (10/10)	100% (10/10)	100% (10/10)	100% (10/10)	100% (10/10)	90,0% (9/10) <sup>a</sup>	98,3% (59/60) <sup>a</sup>
% łączna zgodność wg operatora	100% (50/50)	100% (50/50)	100% (50/50)	100% (50/50)	100% (50/50)	98,0% (49/50) <sup>a</sup>	99,7% (299/300) <sup>a</sup>

a. Brak wyników rozbieżnych. Jedna próbka miała wynik nieokreślony po powtórzeniu badania.



Aby ocenić odtwarzalność między numerami serii, panel 5 próbek opisany powyżej badano dwa razy na dzień w trakcie 5 dni badań z użyciem każdego z trzech numerów serii testu w jednym ośrodku wykonującym badania (5 próbek × 2 serie/dzień × 3 numery serii × 5 dni). Podsumowanie wyników według numeru serii przedstawia Tabela 6 i Tabela 7. Nie było statystycznie istotnej różnicy w wynikach między numerami serii zarówno dla czynnika II ( $p = 1,000$ ), jak i czynnika V ( $p = 1,000$ ).

**Tabela 6. Podsumowanie wyników odtwarzalności według numeru serii — czynnik II**

Identyfikator próbki	Seria 1	Seria 2	Seria 3	% łączna zgodność wg próbki
NOR	100% (10/10)	100% (10/10)	100% (10/10)	100% (30/30)
Czynnik II HET / czynnik V NOR	100% (10/10)	100% (10/10)	100% (10/10)	100% (30/30)
Czynnik II HOM / czynnik V NOR	100% (10/10)	100% (10/10)	100% (10/10)	100% (30/30)
Czynnik II NOR / czynnik V HOM	100% (10/10)	100% (10/10)	100% (10/10)	100% (30/30)
Czynnik II NOR / czynnik V HET	100% (10/10)	100% (10/10)	100% (10/10)	100% (30/30)
% łączna zgodność wg numeru serii	100% (50/50)	100% (50/50)	100% (50/50)	100% (150/150)

**Tabela 7. Podsumowanie wyników odtwarzalności według numeru serii — czynnik V**

Identyfikator próbki	Seria 1	Seria 2	Seria 3	% łączna zgodność wg próbki
NOR	100% (10/10)	100% (10/10)	100% (10/10)	100% (30/30)
Czynnik II HET / czynnik V NOR	100% (10/10)	100% (10/10)	100% (10/10)	100% (30/30)
Czynnik II HOM / czynnik V NOR	100% (10/10)	100% (10/10)	100% (10/10)	100% (30/30)
Czynnik II NOR / czynnik V HOM	100% (10/10)	100% (10/10)	100% (10/10)	100% (30/30)
Czynnik II NOR / czynnik V HET	100% (10/10)	100% (10/10)	100% (10/10)	100% (30/30)
% łączna zgodność wg numeru serii	100% (50/50)	100% (50/50)	100% (50/50)	100% (150/150)

## 21 Piśmiennictwo

1. Thrombophilia as a multigenic disease. B. Zoeller, P.G. de Frutos, A. Hillarp, B. Dahlback. *Haematologica* 1999; 84:59–70.
2. Screening for inherited thrombophilia: indications and therapeutic implications. V. De Stefano, E. Rossi, K. Paciaroni, G. Leone. *Haematologica* 2002; 87:1095 – 1108.
3. Laboratory investigation of thrombophilia. A Tripodi and P.M. Mannucci. *Clinical Chemistry* 2001; 47:1597–1606.
4. Zhang et al. Venous thromboembolism laboratory testing (factor V Leiden and factor II c.\*97G>A), 2018 update: a technical standard of the American College of Medical Genetics and Genomics (ACMG). *Genetics in Medicine* (2018) 20:1489–1498
5. Montagnana M, Lippi G, Danese E. An Overview of Thrombophilia and Associated Laboratory Testing. *Methods Mol Biol.* 2017;1646:113-135
6. Grody WW, Griffin JH, Taylor AK, *et al.* American college of medical genetic consensus statement on factor V leiden mutation testing. *Genetics in Medicine.* 2001; 3(2):139–148.
7. Centers for Disease Control and Prevention. Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories. 5th Edition HHS Publication No. (CDC) 21-1112 Revised December 2009 <https://www.cdc.gov/labs/BMBL.html>.
8. Clinical and Laboratory Standards Institute document M29-A4—Protection of Laboratory Workers From Occupationally Acquired Infections; Approved Guideline 4th Edition. 2014
9. REGULATION (EC) No 1272/2008 OF THE EUROPEAN PARLIAMENT AND OF THE COUNCIL of 16 December 2008 on the classification labeling and packaging of substances and mixtures amending and repealing, List of Precautionary Statements, Directives 67/548/EEC and 1999/45/EC (amending Regulation (EC) No 1907/2007).
10. Occupational Safety and Health Standards, Hazard Communication, Toxic and Hazard Substances (March 26, 2012) (29 C.F.R., pt. 1910, subpt. Z).

## 22 Lokalizacja siedziby głównej firmy Cepheid

### Siedziba główna firmy

Cepheid  
904 Caribbean Drive  
Sunnyvale, CA 94089  
Stany Zjednoczone  
Telefon: + 1 408 541 4191  
Faks: + 1 408 541 4192  
www.cepheid.com

### Siedziba główna w Europie

Cepheid Europe SAS  
Vira Solelh  
81470 Maurens-Scopont  
Francja  
Telefon: + 33 563 825 300  
Faks: + 33 563 825 301  
www.cepheidinternational.com

## 23 Pomoc techniczna

Przed skontaktowaniem się z Centrum wsparcia klienta firmy Cepheid zbierz następujące informacje:

- Nazwa produktu
- Numer serii
- Numer seryjny aparatu
- Komunikaty o błędach (jeśli występują)
- Wersja oprogramowania i numer znacznika serwisowego komputera (w odpowiednim przypadku)















### Informacje kontaktowe

Stany Zjednoczone  
Telefon: + 1 888 838 3222  
Email: techsupport@cepheid.com

Francja  
Telefon: + 33 563 825 319  
Email: support@cepheideurope.com

Dane kontaktowe wszystkich oddziałów centrum wsparcia klienta firmy Cepheid są dostępne na naszej stronie internetowej: [www.cepheid.com/en/CustomerSupport](http://www.cepheid.com/en/CustomerSupport).

## 24 Tabela symboli

Symbol	Znaczenie
	Numer katalogowy
	Wyrób medyczny do diagnostyki <i>in vitro</i>
	Nie używać ponownie
	Kod serii
	Zapoznać się z instrukcją użycia
	Przeostroga
	Producent
	Kraj produkcji
	Zawiera ilość wystarczającą do wykonania <n> badań
	Kontrola
	Data ważności
	Oznaczenie CE — zgodność z wymogami UE
	Zakres temperatury
	Zagrożenie biologiczne



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



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

