

# 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.

This product is manufactured and sold under license from bioMérieux SA under U.S. Patent No. 6,518,016.

This product is made and sold under license from DxS Limited under U.S. Patent No. 6,326,145 and counterpart patents worldwide.

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.**

## Varumärken, patent och copyright-uttalanden

Cepheid<sup>®</sup>, Cepheid-logotypen, GeneXpert<sup>®</sup> och Xpert<sup>®</sup> är varumärken som tillhör Cepheid.  
Windows<sup>®</sup> är ett varumärke som tillhör Microsoft Corporation.

Denna produkt är tillverkad och såld under licens från bioMérieux SA under amerikanskt patent nr 6,518,016.

Denna produkt är tillverkad och såld under licens från DxS Limited under amerikanskt patent nr 6,326,145 och motsvarande patent i hela världen.

KÖPET AV DENNA PRODUKT ÖVERFÖR DEN ICKE-ÖVERFÖRBARA RÄTTIGHETEN TILL KÖPAREN ATT ANVÄNDA PRODUKTEN I ENLIGHET MED DENNA BRUKSANVISNING. INGA ANDRA RÄTTIGHETER ÄR UTTRYCKLIGEN ÖVERFÖRDA, UNDERFÖRSTÅDDA ELLER VIA ESTOPPEL. DESSUTOM ÄR INGA RÄTTIGHETER FÖR ÅTERFÖRSÄLJNING HÄNVISADE TILL KÖPET AV DENNA PRODUKT.

**Copyright © Cepheid 2020. Med ensamrätt.**



Cepheid  
904 Caribbean Drive  
Sunnyvale, CA 94089  
USA

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

För *in vitro*-diagnostisk användning.

## 1 Egendomsskyddat namn

Xpert<sup>®</sup> FII & FV

## 2 Allmänt namn

Xpert Factor II & Factor V-assay

Xpert Factor II & Factor V

## 3 Avsedd användning

Xpert<sup>®</sup> Factor II & Factor V-assay är en kvalitativ *in vitro*-diagnostisk genotypningstest för detektionen av Faktor II- och Faktor V-alleler från natriumcitrat- eller EDTA-antikoagulerat helblod. Testet utfördes på Cepheid GeneXpert<sup>®</sup> Dx-systemets mjukvaruversion 4.0 eller senare. Testet är avsett att tillhandahålla resultat för Faktor II (G20210A)- och Faktor V Leiden (G1691A)-mutationer som en hjälp vid diagnostiseringen av individer med misstänkt trombofili.

## 4 Sammanfattning och förklaring

Associationen av Faktor II (G20210A)- och Faktor V Leiden (G1691A)-mutationer med en ökad risk för venös trombos har varit väl dokumenterat.<sup>1, 2, 3, 4</sup> Faktor II c.\*97G>A betecknades tidigare som G20210A eller 20210G>A4 och refereras vanligtvis som protrombin eller, som i Xpert Factor II & Factor V-testet, som Faktor II (G20210A). Faktor II (G20210A)-mutationen hänsyftar till övergången från G till A vid nukleotid 20210 i genen 3' icke-translaterade region och förknippas med ökade plasmanivåer av protrombin.

Faktor V c.1601G>A (p.Arg534Gln) betecknades tidigare som G1691A eller Arg506Gln och refererades vanligtvis som Faktor V Leiden eller FVL<sup>5</sup>, eller som i Xpert Factor II & Factor V-testet, som Faktor V (G1691A). Faktor V Leiden (G1691A) hänsyftar till övergången från G till A vid nukleotidposition 1691 av Faktor V-genen, som resulterar i substitutionen av aminosyran arginin mot glutamin i Faktor V-proteinet, vilket orsakar ett motstånd till klyvning av aktiverat Protein C (APC).

Faktor II (G20210A)- och Faktor V Leiden (G1691A)-mutationer förekommer i 2 % respektive 5 % av den allmänna befolkningen.<sup>6</sup>

## 5 Metodens princip

GeneXpert Dx-systemet automatiserar och integrerar provrening, nukleinsyraamplifiering och detektion av målsekvensen i helblod med realtids-PCR (Polymerase Chain Reaction) (PCR)-assayer. Systemet består av ett instrument, en persondator, manuell streckkodsscanner och förladdad programvara för att köra test och granska resultaten. Systemet kräver användningen av kasserbara kassetter för engångsbruk som rymmer PCR-reagenser och som står för PCR-processen. På grund av att kassetterna är fristående är korskontamination mellan prov eliminerad. För en fullständig beskrivning av systemet, se *GeneXpert Dx-systemets användarmanual*.

Xpert Factor II & Factor V-assay inkluderar reagenser för detektionen av normala och muterade Faktor II- och Faktor V-alleler från natriumcitrat- eller EDTA-antikoagulerat helblod. Varje assay-kassett innehåller också en probcheckkontroll (Probe Check Control, PCC) som verifierar rehydrering av reagens, PCR-rörets fyllning i kassetten, probens integritet och färgämnets stabilitet.

Primrar och prober i Xpert Factor II & Factor V-assay bestämmer genotypen av Faktor II-genen (vid position 20210) och/eller Faktor V-genen (vid position 1691).

## 6 Reagenser

### 6.1 Material som tillhandahålls



Xpert Factor II och Factor V-assay-kitet innehåller tillräckligt med reagenser för att bearbeta 10 prov eller kvalitetskontrollprover.

Kitet innehåller följande:

<b>Xpert Factor II &amp; Factor V-assay-kassetter med integrerade reaktionsrör</b>	<b>10</b>
<b>Kula 1 och kula 2 (frystorkade)</b>	<b>1 av var per kassett</b>
<b>Reagens 1</b>	<b>3,0 mL per kassett</b>
<b>Reagens 2 (guanidinhydroklorid)</b>	<b>3,0 mL per kassett</b>
<b>CD</b>	<b>1 per kit</b>
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Assaydefinitionsfiler (ADF)</li> <li>• Instruktioner om hur man importerar ADF in i GeneXpert-programvaran</li> <li>• Bruksanvisning</li> </ul>	

**Obs!** Säkerhetsdatabladet finns tillgängliga på [www.cepheid.com](http://www.cepheid.com) eller [www.cepheidinternational.com](http://www.cepheidinternational.com) under fliken **SUPPORT (SUPPORT)**.

**Obs!** Bovint serumalbumin (BSA) i kulorna inuti denna produkt producerades och tillverkades enbart från bovin plasma insamlad i USA. Inget protein från idisslare eller annat djurprotein gavs till djuren. Djuren testades och godkändes före och efter döden. Under bearbetning blandades inte materialet med andra djurmaterial.

## 7 Förvaring och hantering



- Förvara Xpert Factor II & Factor V-assay-kassetterna vid 2–28 °C.
- Använd inte kassetter som har passerat utgångsdatumet.
- Öppna inte en kassett förrän du är klar att genomföra testningen.
- Använd kassetten och reagenserna inom 30 minuter efter öppnandet av kassetlocket.

## 8 Nödvändiga material som inte tillhandahålls

- GeneXpert Dx-systemet (katalognummer varierar med konfiguration): GeneXpert-instrument, dator, streckkodsscanner och *GeneXpert Dx-systemets användarmanual*.

**Obs!** GeneXpert Dx-systemet (katalognummer varierar med konfiguration). Kontakta Cepheid för den önskade konfigurationen och motsvande katalognummer.

- GeneXpert Dx-systemet: Programvara version 4.0 eller senare.
- Pipett för att dispensera 50 µL natriumcitrat- eller EDTA-anitkoagulerat blod med aerosolresistenta filterspetsar.
- HemosIL FII & FV DNA-kontroll, SN 0020003500.

## 9 Varningar och försiktighetsåtgärder



- Behandla alla biologiska prover, inklusive använda kassetter, som om de kan överföra smittämnen. På grund av att det ofta är omöjligt att veta vilket som kan vara smittsamt ska alla biologiska prover behandlas med sedvanliga försiktighetsåtgärder. Riktlinjer för provhantering finns tillgängliga hos U.S. Centers for Disease Control and Prevention<sup>7</sup> och Clinical and Laboratory Standards Institute<sup>8</sup>.
- Följ din institutions säkerhetsprocedurer vid arbete med kemikalier och hantering av biologiska prov.
- Använd kassetterna före utgångsdatumet som anges på kitet.
- Öppna inte kassetlocket till Xpert Factor II & Factor V-assay förutom när du sätter till prov.
- Använd inte en kassett som har tappats eller skakats efter tillsats av prov.
- Använd inte en kassett som har ett skadat (t.ex. böjt eller trasigt) reaktionsrör.



- Varje Xpert Factor II & Factor V-assay-kassett för engångsbruk används för att bearbeta ett test. Återanvänd inte använda kassetter.
- Biologiska prover, överföringsanordningar och använda kassetter bör anses kunna överföra smittsubstanter som kräver sedvanliga försiktighetsåtgärder. Följ din institutions rutiner för miljöavfall för korrekt bortskaffande av använda kassetter och oanvända reagenser. Dessa material kan uppvisa egenskaper som kemiskt farligt avfall som kräver specifika nationella eller regionala bortskaffningsförfaranden. Om nationella eller regionala föreskrifter inte ger tydliga riktlinjer för korrekt bortskaffande ska biologiska prover och använda kassetter kasseras enligt WHO:s (Världshälsoorganisationens) föreskrifter om hantering och bortskaffande av farligt medicinskt avfall.



- Förvara Xpert Factor II & Factor V-assay-kitet vid 2–28 °C.
- Öppna inte ett kassetlock förrän du är klar att genomföra testningen.
- I händelse av att det interna trycket stiger över den av tillverkaren föreställda gränsen kommer körningen automatiskt att avbrytas och ett **FEL (ERROR)**-resultat kommer att rapporteras.

## 10 Kemiskt farliga ämnen<sup>9, 10</sup>

- UN GHS faropiktogram:
- Signalord: VARNING
- **UN GHS riskuttalande**
  - Kan vara skadligt vid förtäring
  - Orsakar hudirritation
  - Orsakar allvarlig ögonirritation
- **UN GHS skyddsangivelser**
  - **Förebyggande**
    - Tvätta noggrant efter hantering.
    - Använd skyddshandskar/skyddskläder/ögonskydd/ansiktsskydd
  - **Svar**
    - VID HUDKONTAKT: Tvätta med mycket tvål och vatten.
    - Särskild behandling, se kompletterande information om första hjälpen.
    - Vid hudirritation: Sök läkarhjälp
    - Nedstänkta kläder tas av och tvättas innan de används igen.
    - VID KONTAKT MED ÖGONEN: Skölj försiktigt med vatten i flera minuter. Ta ur eventuella kontaktlinser om det går lätt. Fortsätt att skölja.
    - Vid bestående ögonirritation: Sök läkarhjälp
    - Vid obehag, kontakta GIFTINFORMATIONSCENTRAL eller läkare.

## 11 Provtagning, transport och förvaring



För att erhålla lämpligt prov, följ instruktionerna i detta avsnitt ingående.

- Endast utbildad, legitimerad sjukvårdspersonal ska dra blod i EDTA- eller natriumcitratantikoagulerade rör.
- Blodprovet får inte centrifugeras eller koncentreras genom borttagning av plasma.
- Blod ska bearbetas inom 24 timmar när det förvaras vid rumstemperatur (22–28 °C). Prov ska förvaras vid 2–8 °C om de förvaras längre än 24 timmar. Blod är stabilt upp till 15 dagar när det förvaras vid 2–8 °C. Blodprov kan också förvaras vid -20 °C eller -80 °C i upp till 3 månader. Användning av en nedfrysningskompatibel förvaringsflaska rekommenderas.

**Obs!** Låt nedfryst blod tina upp helt vid rumstemperatur. Det rekommenderas inte att frysa ned/tina upp blod mer än en gång.

- Blanda prov genom att vända upp och ned 5 gånger före dispenseringen in i kassetten.

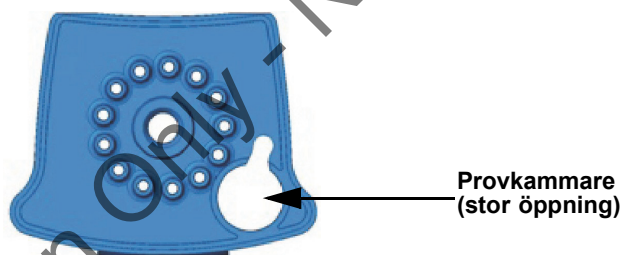
## 12 Procedur

### 12.1 Förbereda kassetten

**Viktigt** Starta testet inom 15 minuter från det att provet adderats till kassetten.

Hur man adderar prov till kassetten:

1. Ta ut kassetten från kitet. Det är inte nödvändigt att kassetten uppnår rumstemperatur före användningen.
2. Blanda prov genom att vända upp och ned minst 5 gånger tills homogent.
3. Öppna locket på kassetten. Med användning av en pipett med en aerosolresistent spets, överför 50 µL natriumcitrat- eller EDTA-antikoagulerat blod till den nedersta väggen i provöppningen på Xpert Factor II & Factor V-assay-kassetten. Se Figur 1.
4. Stäng locket på kassetten.



Figur 1. Xpert Factor II & Factor V-kassetten (vy ovanifrån)

## 12.2 Starta testet

### Viktigt

Innan du startar testet se till att Xpert FII-, Xpert FV- och Xpert FII & FV-kombo assaydefinitionsfiler importerats in i mjukvaran. Assaydefinitionsfiler finns på den bifogade Cd:n.

Detta avsnitt anger de grundläggande stegen för att köra assay. För detaljerade instruktioner, se *GeneXpert Dx-systemets användarmanual*.

1. Sätt på GeneXpert Dx-instrumentet och sätt sedan på datorn. GeneXpert-mjukvaran kommer att starta automatiskt.
2. Logga in på GeneXpert Dx-systemets mjukvara med användning av ditt användarnamn och lösenord.
3. I GeneXpert Dx-systemfönstret, klicka på **Skapa test (Create Test)**. Fönstret Skapa test (Create Test) visas.
4. Skanna streckkoden på kassetten.
5. I rutan Prov-ID (Sample ID), skriv in prov-ID. Se till att du skriver in korrekt prov-ID. Alternativt kan du skanna provets streckkod. Prov-ID associeras med testresultaten och visas i fönstret Granska resultat (View Results) och alla rapporter.

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

Figur 2. Fönstret Skapa test

6. Från nedrullningsmenyn **Välj assay (Select Assay)**, välj tillämplig assay att köra.
7. Klicka på **Starta test (Start Test)**. Skriv in ditt lösenord i den visade dialogrutan.
8. Öppna instrumentmodulens dörr med den blinkande gröna lampan och ladda kassetten.
9. Stäng dörren. Testet startas och den gröna lampan slutar att blinka. När testet är klar slutar lampan att lysa.
10. När systemet frigör dörrregeln, öppna moduldörren och ta ut kassetten.
11. Kassera använda kassetter i lämpliga avfallsbehållare för prov enligt din institutions standardpraxis.

## 13 Granska och skriva ut resultat

För detaljerade instruktioner om hur man granskar och skriver ut resultaten, se *GeneXpert Dx-systemets användarhandbok*.

### Obs!

Om rapporteringen av resultat använder ett LIS, bekräfta att LIS-resultaten överensstämmer med systemresultaten för patient-ID. Om de inte överensstämmer, rapportera endast systemresultaten.

## 14 Kvalitetskontroll

**CONTROL** Varje test omfattar en probcheckkontroll (PCC).

**Probcheckkontrollen (PCC)** – Innan start av PCR-reaktionen, mäter GeneXpert-systemet fluorescenssignalen från proberna för att övervaka rehydreringen av kulan, fyllningen av reaktionsröret, probintegriteten och färgämnets stabilitet. Probkontrollen godkänns om den uppfyller de tilldelade acceptanskriterierna.

**Externa kontroller** – HemosIL FII & FV DNA-kontroll SN 0020003500 har utformats och validerats för det externa QC-programmet för Xpert FII & FV-assay.

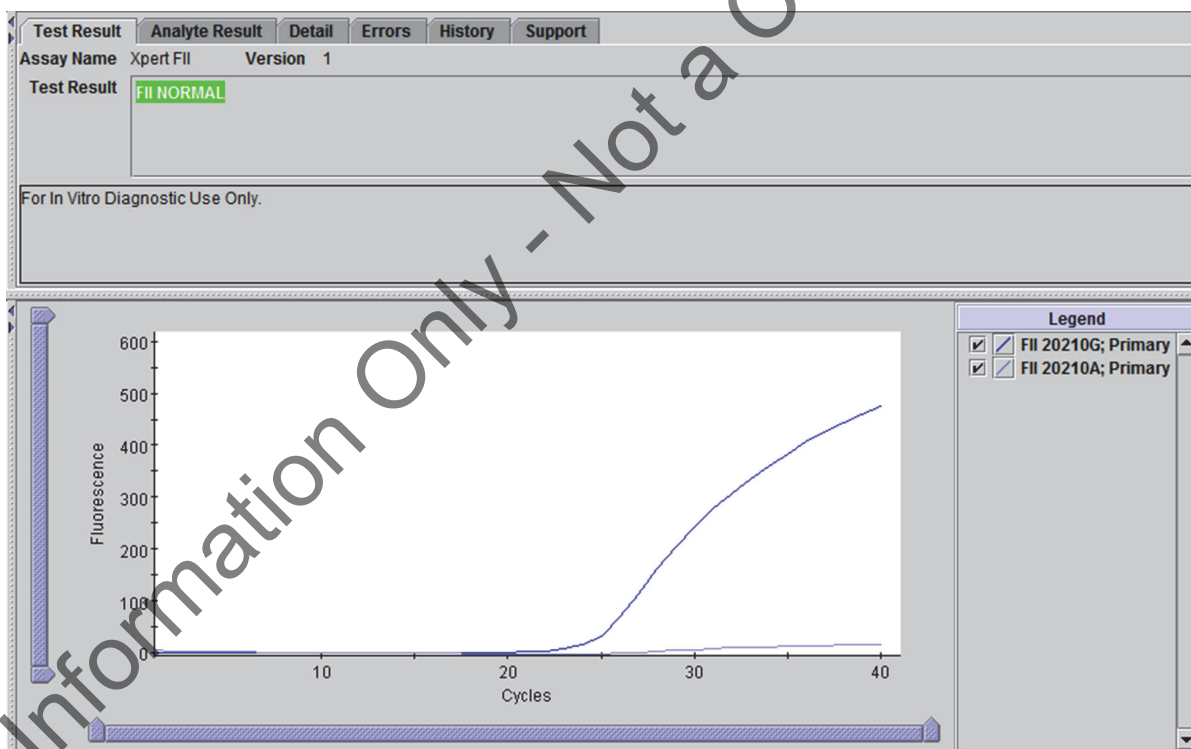
Alternativt kan normala, heterozygota eller homozygota Faktor II/Faktor V-helblodsprover (natriumcitrat- eller EDTA-antikoagulerade) också användas för utbildning, testning av färdighet och extern QC av Xpert Factor II & Factor V-assay. Cellbaserat material krävs. Använd inte extraherat DNA. Externa kontroller kan användas i enlighet med lokala, statliga och federala godkända organisationer, som tillämpligt.

## 15 Tolkning av resultat

Resultaten tolkas av GeneXpert Dx-systemet från uppmätta fluorescenssignaler och inneslutna algoritmer för att identifiera genotyper och visas i de följande fönstren Granska resultat (View Results):

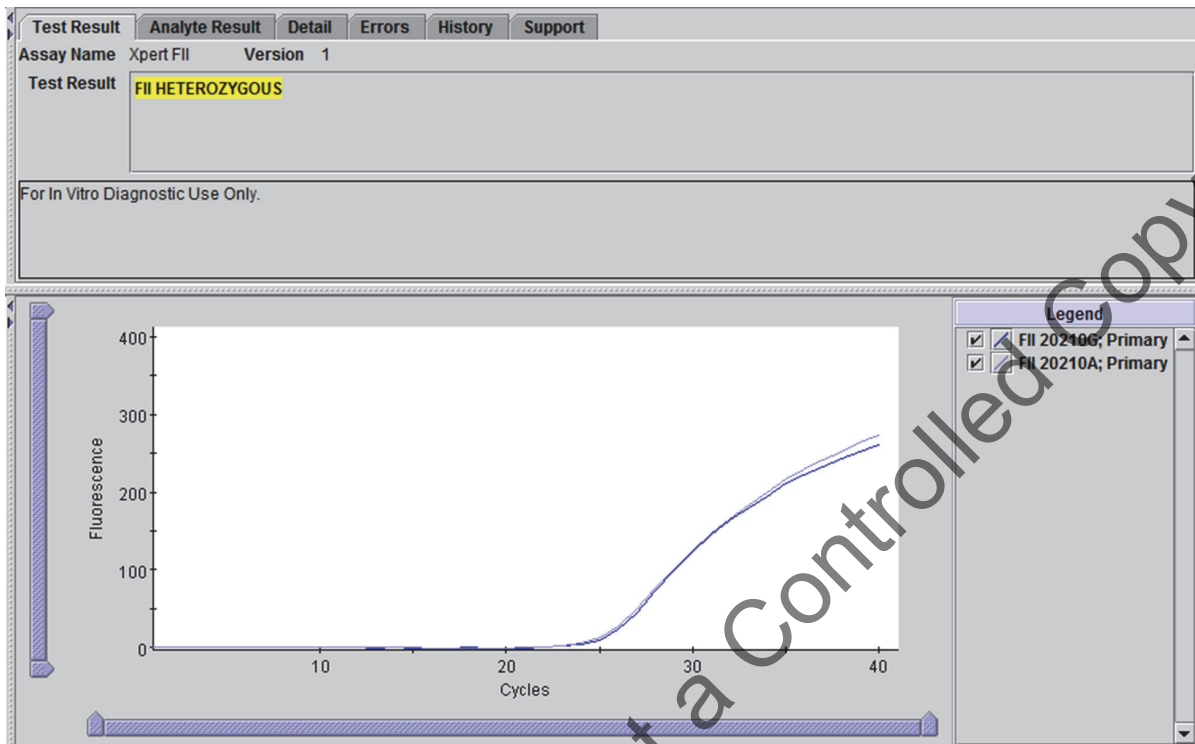
Resultatet 'NORMAL (NORMAL)' refererar till "wildtype" (ingen mutation detekterad); resultatet 'HOMOZYGOT (HOMOZYGOUS)' refererar till 'homozygot mutant' (mutation detekterad i båda alleler); resultatet 'HETEROZYGOT (HETEROZYGOUS)' refererar till 'heterozygot mutant' (mutation detekterad i en allel).

För Xpert FII-resultat, när assay-typ FII väljs från nedrullningsmenyn, se Figur 3 till och med Figur 5.

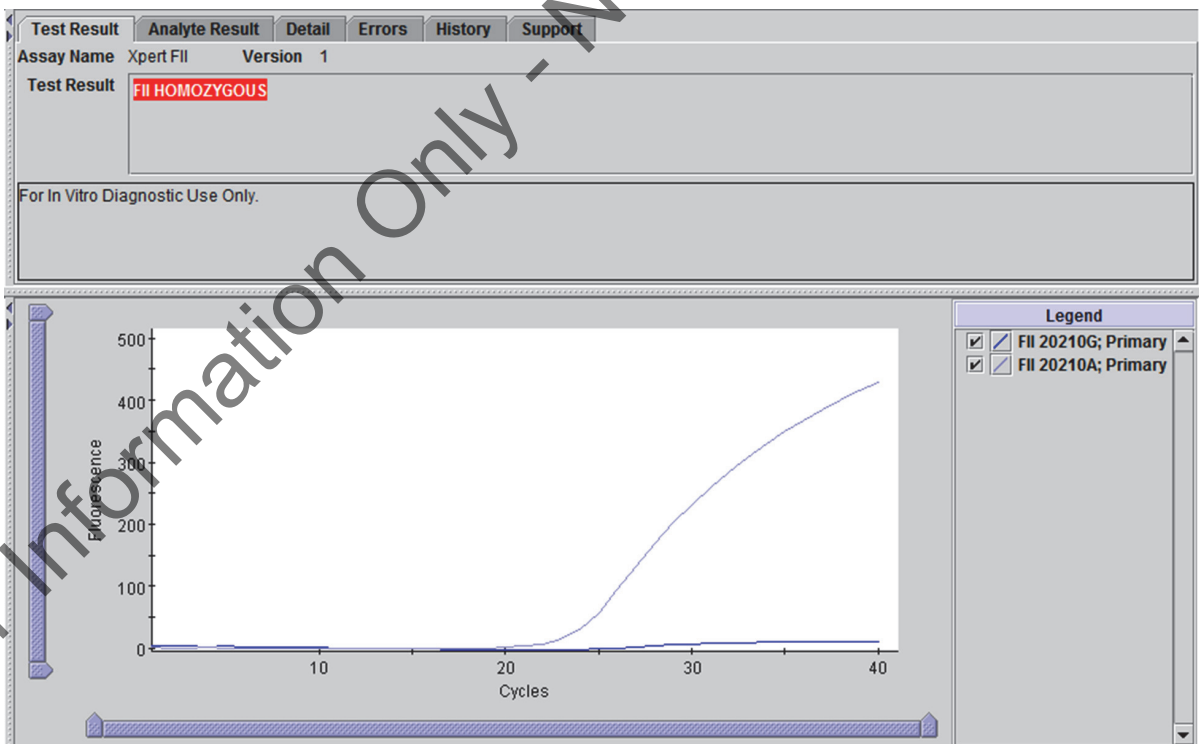


Figur 3. GeneXpert Dx-systemet – fönstret Granska resultat med normalt Faktor II-resultat



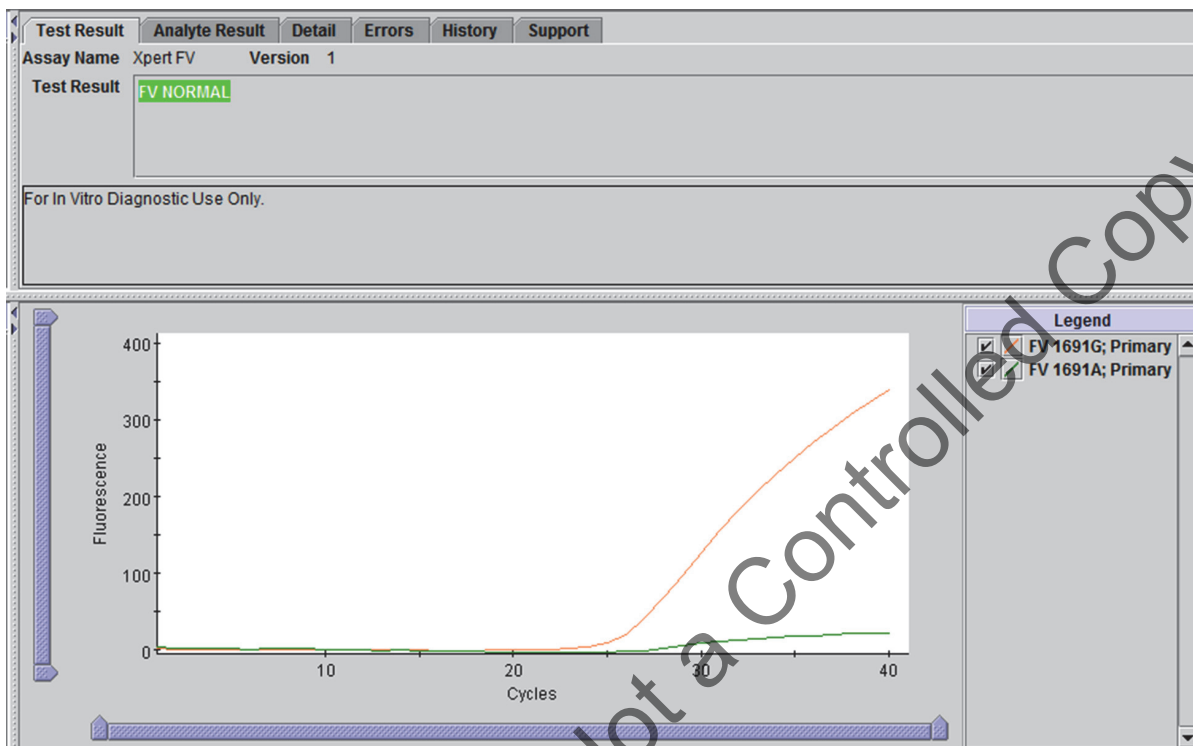


Figur 4. GeneXpert Dx-systemet – fönstret Granska resultat med Faktor II heterozygot resultat

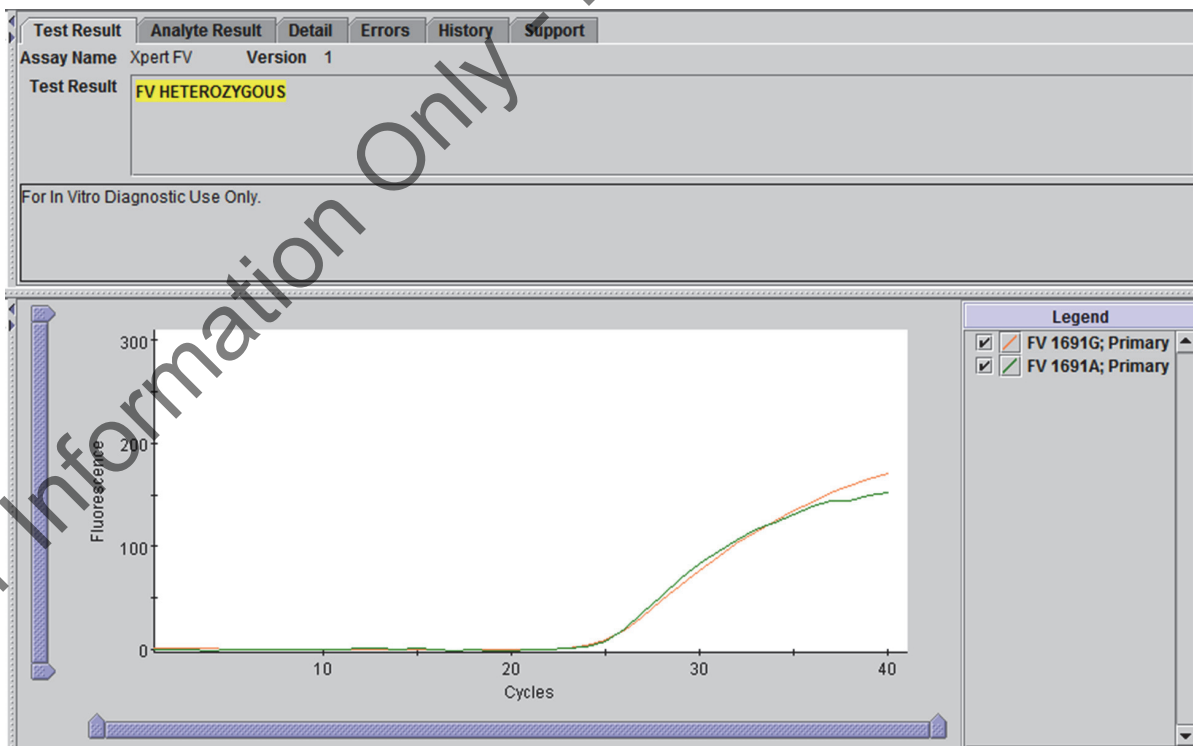


Figur 5. GeneXpert Dx-systemet – fönstret Granska resultat med Faktor II homozygot resultat

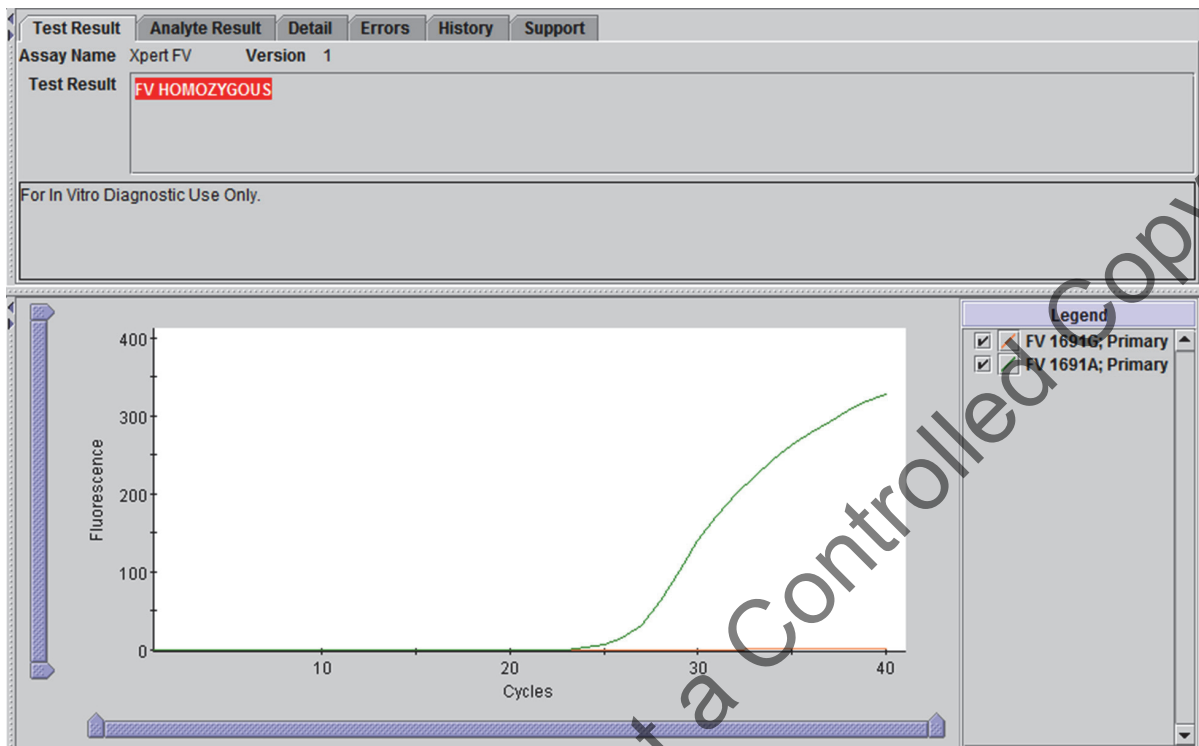
För Xpert FII-resultat, när assay-typ FV väljs från nedrullningsmenyn, se Figur 6 till och med Figur 8.



Figur 6. GeneXpert Dx-systemet – fönstret Granska resultat med Faktor V-resultat

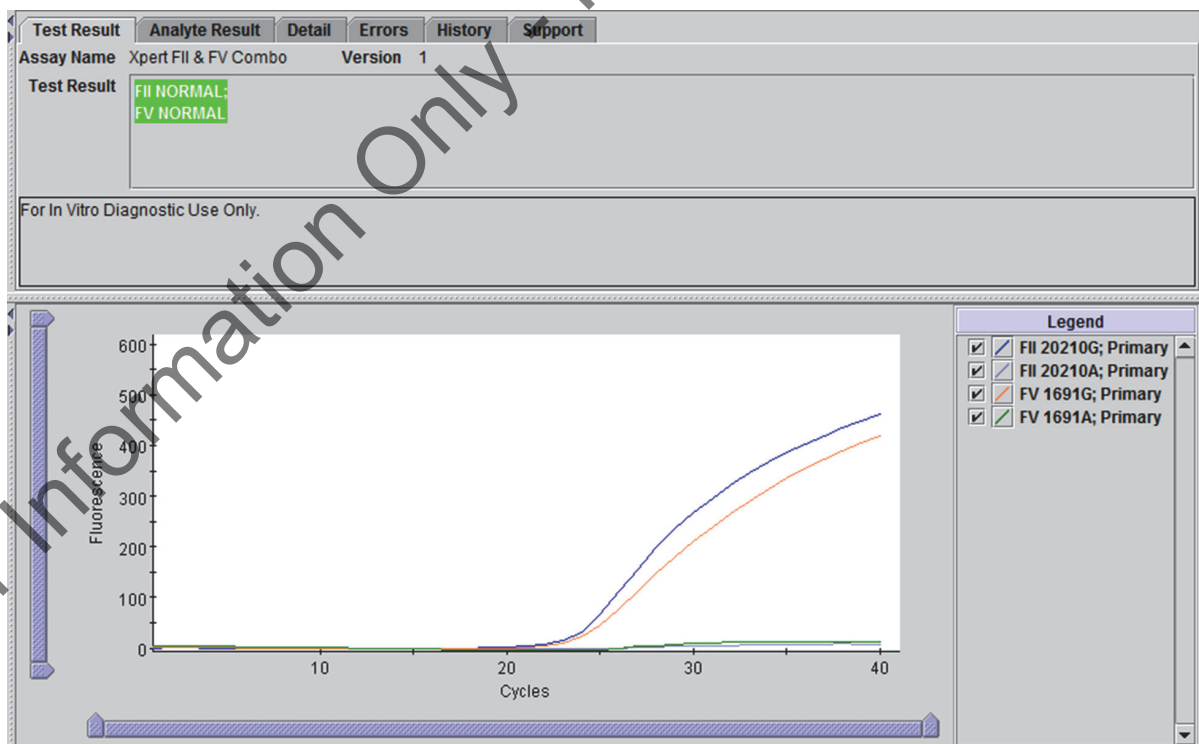


Figur 7. GeneXpert Dx-systemet – fönstret Granska resultat med Faktor V heterozygot resultat

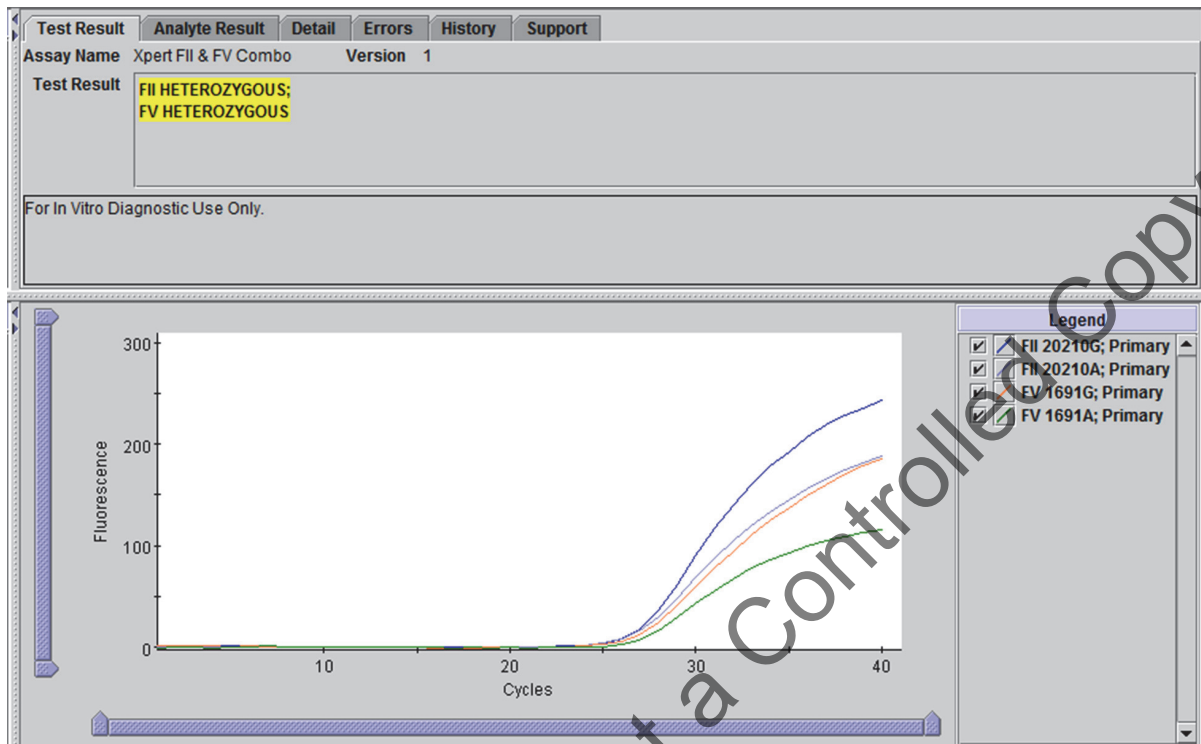


Figur 8. GeneXpert Dx-systemet – fönstret Granska resultat med Faktor V homozygot resultat

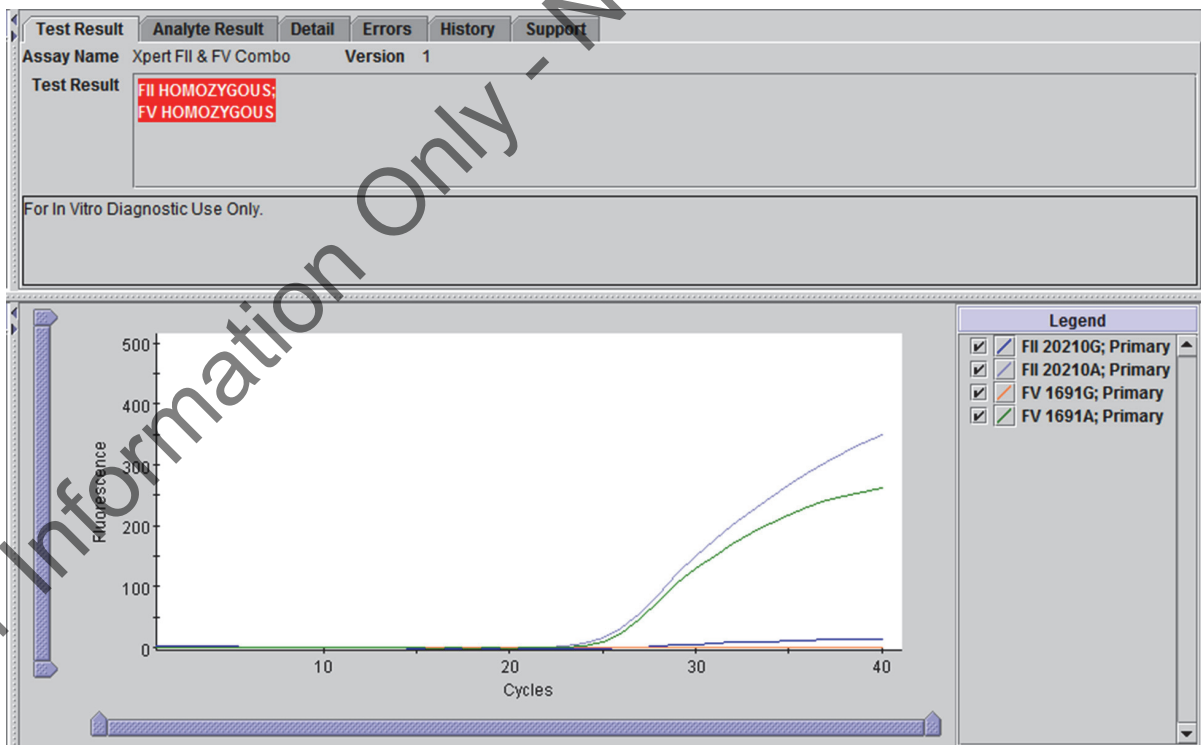
För Xpert FII- och FV-resultat, när assay-typ FII & FV-kombo väljs från nedrullningsmenyn, se Figur 9 till och med Figur 11.



Figur 9. GeneXpert Dx-systemet – fönstret Granska resultat med Faktor II- & FV-resultat



Figur 10. GeneXpert Dx-systemet – fönstret Granska resultat med Faktor II & V heterozygot resultat



Figur 11. GeneXpert Dx-systemet – fönstret Granska resultat med Faktor II & V homozygot resultat

**OGILTIGT (INVALID)**

Förekomst eller frånvaro av normala och muterade alleler av Faktor II/Faktor V kan inte fastställas. Upprepa assay i enlighet med nedan instruktioner. Provet bearbetades inte korrekt eller PCR inhiberades.

- **OGILTIGT (INVALID)** – Förekomst eller frånvaro av normala och muterade alleler av Faktor II/Faktor V kan inte fastställas.
- Probcheck – GODKÄND (PASS), alla probcheckkontrollresultat är godkända.

**FEL (ERROR)**

Förekomst eller frånvaro av normala och muterade alleler av Faktor II/Faktor V kan inte fastställas. Upprepa assay i enlighet med nedan instruktioner. Probcheckkontroll misslyckades och assay avbröts möjligen på grund av ett reaktionsrör inte fyllts korrekt eller ett detekterat problem med probintegritet. Fel kan också orsakas av att de maximala tryckgränserna överskrids eller ett fel på en systemkomponent.

- **FEL (ERROR)**
  - Probcheck – EJ GODKÄND (FAIL\*), ett eller flera av probcheckkontrollresultaten är ej godkända.
- \*Om probchecken är godkänd orsakas felet av ett fel på en systemkomponent.

**INGET RESULTAT (NO RESULT)**

Förekomst eller frånvaro av normala och muterade alleler av Faktor II/Faktor V kan inte fastställas. Upprepa assay i enlighet med nedan instruktioner. Otillräckligt med data insamlades för att ge ett assay-resultat (till exempel kan detta ske om operatören stoppat ett pågående test).

- **INGET RESULTAT (NO RESULT)**
- Probkontroll – Ej tillämpligt (NA, not applicable)

**16 Anledningar till att upprepa analysen**

Upprepa assay med en ny kasset (kassetten får inte återanvändas) och en ny alikvot natriumcitrat- eller EDTA-antikoagulerat helblod:

- Ett **OGILTIGT (INVALID)** resultat anger att provet inte bearbetades korrekt eller att PCR inhiberades.
- Ett **FEL (ERROR)**-resultat anger att probcheckkontrollen misslyckades och assay avbröts möjligen på grund av ett reaktionsrör inte fyllts korrekt eller ett detekterat problem med reagensprobintegritet. Fel kan också orsakas av att de maximala tryckgränserna överskrids eller ett fel på en systemkomponent.
- Ett **INGET RESULTAT (NO RESULT)** tyder på att otillräckligt med data insamlades. Till exempel, användaren stoppade en test som kördes.

**17 Begränsningar**

- Prestandan av Xpert Factor II & Factor V-assay validerades endast med användning av procedurer i denna bruksanvisning. Modifiering av dessa procedurer kan ändra testets prestanda. Resultat från Xpert Factor II & Factor V-assay ska tolkas tillsammans med andra laboratorieresultat och kliniska uppgifter som är tillgängliga för klinikern.
- Sällsynta Faktor V-mutationer (A1696G, G1689A och A1692C) och alla ytterligare enbaspolymorfier (singelnukleotidpolymorfism, SNP) i den probbindande regionen kan störa måldetektionen och ge ett **OGILTIGT (INVALID)** resultat.
- Andra ovanliga Faktor II-mutationer i den probbindande regionen kan störa måldetektionen och kan ge ett **OGILTIGT (INVALID)** resultat, eller ett falskt **HOMOZYGOT (HOMOZYGOUS)** muterat resultat när det sker samstämmigt med Faktor II c.\*97G>A (G20210A)-mutationen.
- Prestandan av Xpert Factor II & Factor V-assay har inte utvärderats med prov från pediatrika patienter.
- Felaktiga testresultat kan uppstå vid olämplig provinsamling, hantering, förvaring eller vid förväxling av prov. Försiktig följsamhet av instruktionerna i denna förpackning är nödvändig för att undvika felaktiga resultat.

**18 Interfererande substans**

Patienter som får heparinbehandling eller blodtransfusion kan ha blodprov som potentiellt interfererar med PCR-resultaten och som kan leda till ogiltiga eller felaktiga resultat.

Studier av potentiellt interfererande substans visade ingen hämning av upp till 14,3 USP enheter/mL heparin, 16 mg/dL bilirubin, 250 mg/dL tillsatt kolesterol, eller 1 932 mg/dL totala triglycerider (lipider). Ingen hämning sågs med helblodsprov, vilka undergått en nedfrysnings-/upptinningscykel (hemolyserat blod). Ingen statistisk signifikans sågs mellan matchade prov uppdagna i EDTA eller natriumcitrat.

## 19 Förväntade värden

Faktor II (G20210A)- och Faktor V Leiden (G1691A)-mutationer förekommer i 2 % respektive 5 % av den allmänna befolkningen<sup>6</sup>.

## 20 Prestandaegenskaper

### 20.1 Klinisk prestanda

Prestandaegenskaper av Xpert Factor II & Factor V-assay bestämdes i en undersökande multiklinikstudie vid sju institutioner genom att jämföra Xpert Factor II & Factor V-assay med dubbelriktad sekvensering.

Inkluderade prov var de vars rutinvård kallade för insamling av helblod för testning av Faktor II och/eller Faktor V. Provet testades först med rutinmetoder som används på varje deltagande laboratorium och sedan i alikvoter som insamlades för testning i studien med Xpert Factor II & Factor V-assay på GeneXpert. Överflöd av DNA skickades till ett kontraktslaboratorium för dubbelriktad sekvensering.

Prestanda av Xpert Factor II & Factor V-assay beräknades i relation till resultaten från den dubbelriktade sekvenseringen.

### 20.2 Totalresultat

#### Xpert Factor II & Factor V-assay

Totalt testades 1 018 prov för Faktor II med både Xpert Factor II & Factor V-assay och dubbelriktad sekvensering. Totalt testades 1 014 prov för Faktor V med både Xpert Factor II & Factor V-assay och dubbelriktad sekvensering. För att komplettera den homozygota provstorleken, testades också 6 prov med humant genomiskt DNA homozygota för Faktor II och 5 homozygota för Faktor V med Xpert Factor II & Factor V-assay och dubbelriktad sekvensering. Resultaten visas i Tabell 1.

Xpert Factor II & Factor V-assay uppvisade en 99,3 % total noggrannhet i relation till dubbelriktad sekvensering för både Faktor II och Faktor V.

Tabell 1. Prestanda av Xpert Factor II & Factor V-assay kontra dubbelriktade sekvensering

Genotyp	Antal testade	Antal korrekta bestämningar på första körningen	Antal ogiltiga <sup>a</sup> bestämningar på första körningen	Överensstämmelse på första körningen	Antal korrekta bestämningar inkluderande upprepad körning	Antal ogiltig <sup>a</sup> bestämningar på upprepad körning	Överensstämmelse efter upprepad körning
Faktor 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>Total</b>	1025 <sup>b</sup>	982	43	95,8 %	1018	7	99,3 %
Faktor 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>Total</b>	1021 <sup>c</sup>	979	42	95,9 %	1014	7	99,3 %

a. Inga diskordanta resultat. Ogiltiga resultat refereras till "obestämbara" resultat

b. Dubbelriktade sekvenseringsresultat för Faktor II fanns inte tillgängliga för 4 prov

c. Dubbelriktade sekvenseringsresultat för Faktor V fanns inte tillgängliga för 8 prov

d. WT (wildtype) är normal

#### Analytisk specificitet

För att utvärdera den analytiska specificiteten av Xpert Factor II & Factor V-assay syntetiserades vanliga genskvenser innehållande "silent" enbaspolymorfier (SNP:er) i den probbindande regionen liksom även utanför den probbindande regionen. Förekomsten av ytterligare enbaspolymorfier i den probbindande regionen resulterade i ett ogiltigt resultat i de flesta fallen. När ett ogiltigt resultat erhöles gav det den korrekta genotypen.

Förekomsten av en ytterligare enbaspolymorfi utanför den probbindande regionen resulterade i den korrekta bestämningen av genotypningen.

**Analytisk sensitivitet**

Studier utfördes för att bestämma minsta och maximala mängd inmatat patientprov för både EDTA- och natriumcitratantikoagulerat helblod som behövdes för att erhålla en korrekt genotyp, som t.ex. att den nedre gränsen för konfidensintervallet på 95 % för den förväntade ”korrekta bestämningssdelen” är större än 95 %.

EDTA- och natriumcitratantikoagulerade blodprov testades (n=20) med 8 volymer varierande från 5 µL till 250 µL.

Fastän assayen kan tolerera varierande volymer från 15 µL–100 µL, är 50 µL den rekommenderade provvolymen för att minimera risken för fel associerade med begränsning och överflöd av prov.

**Reproducerbarhet**

En panel med 5 prov, innehållande en av varje provtyp listad nedan, testades i duplikat av två olika operatörer på 5 olika dagar vid vart och ett av tre ställen (3 prov x 2 gånger/dag x 2 operatörer per ställe x 5 dagar x 3 kliniker). En lot Xpert Factor II & Factor V-assay-kitet användes vid vart och ett av 3 testställen. Xpert Factor II & Factor V-assayer utfördes i enlighet med Xpert Factor II & Factor V-proceduren. Resultat sammanfattas i Tabell 2 till och med Tabell 5.

Studiepanel:

- ett prov med normala (wildtype) alleler för både Faktor II & Faktor V,
- ett prov som är heterozygot för Faktor II-mutation (dvs. en muterad allel och en wildtype-allel för Faktor II-genen) och med normala (wildtype) alleler för Faktor V,
- ett prov som är homozygot för Faktor II-mutation (dvs. två muterade alleler för Faktor II-genen) och med normala (wildtype) alleler för Faktor V,
- ett prov med normala (wildtype)-alleler för Faktor II och homozygot för Faktor V-mutation (dvs. två muterade alleler för Faktor V-genen),
- ett prov med normala (wildtype) alleler för Faktor II-mutation och heterozygot för Faktor V-mutation (dvs. en muterad allel och en wildtype-allel för Faktor V-genen).

En sammanfattning av resultat per ställe visas i Tabell 2 och Tabell 3. Det fanns ingen statistiskt signifikant skillnad i resultat mellan ställen för vare sig Faktor II (p=1,000) eller Faktor V (p=1,000).

**Tabell 2. Sammanfattning av resultat för reproducerbarhet per ställe – Faktor II**

Prov-ID	Ställe 1	Ställe 2	Ställe 3	% total överensstämmelse per prov
NOR	100 % (20/20)	100 % (20/20)	100 % (20/20)	100 % (60/60)
Faktor II HET/Faktor V NOR	100 % (20/20)	100 % (20/20)	100 % (20/20)	100 % (60/60)
Faktor II HOM/Faktor V NOR	100 % (20/20)	100 % (20/20)	100 % (20/20)	100 % (60/60)
Faktor II NOR/Faktor V HOM	100 % (20/20)	100 % (20/20)	100 % (20/20)	100 % (60/60)
Faktor II NOR/Faktor V HET	100 % (20/20)	100 % (20/20)	95,0 % (19/20) <sup>a</sup>	98,3 % (59/60) <sup>a</sup>
% total överensstämmelse per ställe	100 % (60/60)	100 % (60/60)	98,3 % (59/60) <sup>a</sup>	99,7 % (299/300) <sup>a</sup>

a. Inga diskordanta resultat. Ett prov var obestämbart efter omtest.

**Tabell 3. Sammanfattning av resultat för reproducerbarhet per ställe – Faktor V**

Prov-ID	Ställe 1	Ställe 2	Ställe 3	% total överensstämmelse per prov
NOR	100 % (20/20)	100 % (20/20)	100 % (20/20)	100 % (60/60)
Faktor II HET/Faktor V NOR	100 % (20/20)	100 % (20/20)	100 % (20/20)	100 % (60/60)
Faktor II HOM/Faktor V NOR	100 % (20/20)	100 % (20/20)	100 % (20/20)	100 % (60/60)
Faktor II NOR/Faktor V HOM	100 % (20/20)	100 % (20/20)	100 % (20/20)	100 % (60/60)
Faktor II NOR/Faktor V HET	100 % (20/20)	100 % (20/20)	95,0 % (19/20) <sup>a</sup>	98,3 % (59/60) <sup>a</sup>
% total överensstämmelse per ställe	100 % (60/60)	100 % (60/60)	98,3 % (59/60) <sup>a</sup>	99,7 % (299/300) <sup>a</sup>

a. Inga diskordanta resultat. Ett prov var obestämbart efter omtest.

En sammanfattning av resultat per operatör visas i Tabell 4 och Tabell 5. Det fanns ingen statistiskt signifikant skillnad i resultat mellan ställen för vare sig Faktor II ( $p=1,000$ ) eller Faktor V ( $p=1,000$ ).

**Tabell 4. Sammanfattning av resultat för reproducerbarhet per operatör – Faktor II**

Prov-ID	Ställe 1		Ställe 2		Ställe 3		% total överensstämmelse per prov
	Op 1	Op 2	Op 1	Op 2	Op 1	Op 2	
NOR	100 % (10/10)	100 % (10/10)	100 % (10/10)	100 % (10/10)	100 % (10/10)	100 % (10/10)	100 % (60/60)
Faktor II HET/ Faktor V NOR	100 % (10/10)	100 % (10/10)	100 % (10/10)	100 % (10/10)	100 % (10/10)	100 % (10/10)	100 % (60/60)
Faktor II HOM/ Faktor V NOR	100 % (10/10)	100 % (10/10)	100 % (10/10)	100 % (10/10)	100 % (10/10)	100 % (10/10)	100 % (60/60)
Faktor II NOR/ Faktor V HOM	100 % (10/10)	100 % (10/10)	100 % (10/10)	100 % (10/10)	100 % (10/10)	100 % (10/10)	100 % (60/60)
Faktor II NOR/ Faktor 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>
% total överensstämmelse per operatör	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. Inga diskordanta resultat. Ett prov var obestämbart efter omtest.

**Tabell 5. Sammanfattning av resultat för reproducerbarhet per operatör – Faktor V**

Prov-ID	Ställe 1		Ställe 2		Ställe 3		% total överensstämmelse per prov
	Op 1	Op 2	Op 1	Op 2	Op 1	Op 2	
NOR	100 % (10/10)	100 % (10/10)	100 % (10/10)	100 % (10/10)	100 % (10/10)	100 % (10/10)	100 % (60/60)
Faktor II HET/ Faktor V NOR	100 % (10/10)	100 % (10/10)	100 % (10/10)	100 % (10/10)	100 % (10/10)	100 % (10/10)	100 % (60/60)
Faktor II HOM/ Faktor V NOR	100 % (10/10)	100 % (10/10)	100 % (10/10)	100 % (10/10)	100 % (10/10)	100 % (10/10)	100 % (60/60)
Faktor II NOR/ Faktor V HOM	100 % (10/10)	100 % (10/10)	100 % (10/10)	100 % (10/10)	100 % (10/10)	100 % (10/10)	100 % (60/60)
Faktor II NOR/ Faktor 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>
% total överensstämmelse per operatör	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. Inga diskordanta resultat. Ett prov var obestämbart efter omtest.



För att utvärdera reproducerbarhet mellan loter analyserades den ovan beskrivna 5-provspanelen två gånger per dag under 5 testdagar med var och en av tre assay-loter vid ett enstaka testställe (5 prov x 2 körningar per dag x 3 loter x 5 dagar). En sammanfattning av resultat per lot som visas i Tabell 6 och Tabell 7. Det fanns ingen statistiskt signifikant skillnad i resultat mellan loter för vare sig Faktor II ( $p=1,000$ ) eller Faktor V ( $p=1,000$ ).

**Tabell 6. Sammanfattning av resultat för reproducerbarhet per lot – Faktor II**

Prov-ID	Lot 1	Lot 2	Lot 3	% total överensstämmelse per prov
NOR	100 % (10/10)	100 % (10/10)	100 % (10/10)	100 % (30/30)
Faktor II HET/Faktor V NOR	100 % (10/10)	100 % (10/10)	100 % (10/10)	100 % (30/30)
Faktor II HOM/Faktor V NOR	100 % (10/10)	100 % (10/10)	100 % (10/10)	100 % (30/30)
Faktor II NOR/Faktor V HOM	100 % (10/10)	100 % (10/10)	100 % (10/10)	100 % (30/30)
Faktor II NOR/Faktor V HET	100 % (10/10)	100 % (10/10)	100 % (10/10)	100 % (30/30)
% total överensstämmelse per lot	100 % (50/50)	100 % (50/50)	100 % (50/50)	100 % (150/150)

**Tabell 7. Sammanfattning av resultat för reproducerbarhet per lot –Faktor V**

Prov-ID	Lot 1	Lot 2	Lot 3	% total överensstämmelse per prov
NOR	100 % (10/10)	100 % (10/10)	100 % (10/10)	100 % (30/30)
Faktor II HET/Faktor V NOR	100 % (10/10)	100 % (10/10)	100 % (10/10)	100 % (30/30)
Faktor II HOM/Faktor V NOR	100 % (10/10)	100 % (10/10)	100 % (10/10)	100 % (30/30)
Faktor II NOR/Faktor V HOM	100 % (10/10)	100 % (10/10)	100 % (10/10)	100 % (30/30)
Faktor II NOR/Faktor V HET	100 % (10/10)	100 % (10/10)	100 % (10/10)	100 % (30/30)
% total överensstämmelse per lot	100 % (50/50)	100 % (50/50)	100 % (50/50)	100 % (150/150)

## 21 Referenser

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 Platser för Cepheid-huvudkontor

### Huvudkontor

Cepheid  
904 Caribbean Drive  
Sunnyvale, CA 94089  
Förenta staterna  
Telefon: + 1 408 541 4191  
Fax: + 1 408 541 4192  
www.cepheid.com

### Europeiska huvudkontor

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

## 23 Teknisk assistans

Innan kontakt med Cepheid teknisk support, samla in följande information:

- Produktnamn
- Lotnummer
- Instrumentets serienummer
- Felmeddelanden (om några)
- Programvaruversion och, om tillämpligt, datorns serviceetikettnummer















### Kontaktinformation

Förenta staterna  
Telefon: + 1 888 838 3222  
E-post: techsupport@cepheid.com

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

Kontaktinformation till alla Cepheid-kontor med teknisk support finns tillgänglig på vår hemsida:  
[www.cepheid.com/en/CustomerSupport](http://www.cepheid.com/en/CustomerSupport).

## 24 Tabell med symboler

Symbol	Betydelse
	Katalognummer
	<i>In vitro</i> -diagnostisk medicinteknisk enhet
	Får ej återanvändas
	Satskod
	Se bruksanvisningen
	Försiktighet
	Tillverkare
	Tillverkarens land
	Innehåller tillräckligt för <n> test
	Kontroll
	Utgångsdatum
	CE-märkning – Europeisk överensstämmelse
	Temperaturbegränsning
	Biologiska risker



Cepheid  
904 Caribbean Drive  
Sunnyvale, CA 94089  
USA  
Tel.: + 1 408 541 4191  
Fax: + 1 408 541 4192



Cepheid Europe SAS  
Vira Solelh  
81470 Maurens-Scopont  
Frankrike  
Tel.: + 33 563 825 300  
Fax: + 33 563 825 301

