

# Xpert® HemosIL® FII & FV

**REF** GXHEMOSIL-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.

HemosIL<sup>®</sup> is a registered trademark of Instrumentation Laboratory.

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.**

## Dichiarazioni relative a marchi di fabbrica, brevetti e copyright

Cepheid<sup>®</sup>, il logo Cepheid, GeneXpert<sup>®</sup> e Xpert<sup>®</sup> sono marchi di fabbrica di Cepheid.

Windows<sup>®</sup> è un marchio di fabbrica di Microsoft Corporation.

HemosIL<sup>®</sup> è un marchio registrato di Instrumentation Laboratory.

L'ACQUISTO DI QUESTO PRODOTTO CONCEDE ALL'ACQUIRENTE IL DIRITTO NON TRASFERIBILE DI UTILIZZARLO IN CONFORMITÀ CON IL PRESENTE FOGLIETTO ILLUSTRATIVO. NESSUN ALTRO DIRITTO VIENE CONCESSO ESPRESSAMENTE, IMPLICITAMENTE O PER PRECLUSIONE. INOLTRE, NON VIENE CONCESSO NESSUN DIRITTO ALLA RIVENDITA CON L'ACQUISTO DI QUESTO PRODOTTO.

**Copyright © Cepheid 2020. Tutti i diritti riservati.**



Cepheid  
904 Caribbean Drive  
Sunnyvale, CA 94089  
USA

Phone: + 1 408 541 4191

Fax: + 1 408 541 4192



Cepheid Europe S.A.S.  
Vira Solelh  
81470 Maurens-Scopont  
France

Phone: + 33 563 825 300

Fax: + 33 563 825 301

# Xpert® HemosIL® FII & FV

Solo per uso diagnostico *in vitro*

## 1 Nome registrato

Xpert® HemosIL® FII & FV

## 2 Nome comune o usuale

Saggio Xpert HemosIL Factor II & Factor V

Xpert HemosIL Factor II & Factor V

## 3 Uso previsto

Il saggio Xpert HemosIL Factor II & Factor V è un test diagnostico qualitativo di genotipizzazione *in vitro* per la rilevazione degli alleli del fattore II e del fattore V da sangue intero anticoagulato con sodio citrato o EDTA. Il saggio viene eseguito sul sistema Cepheid GeneXpert® Dx. Questo test è previsto per fornire risultati sulle mutazioni del fattore II (G20210A) e del fattore V di Leiden (G1691A) a sostegno della diagnosi in individui con sospetta trombofilia.

## 4 Riepilogo e spiegazione

L'associazione di mutazioni del fattore II (G20210A) e del fattore V di Leiden (G1691A) a un maggiore rischio di trombosi venosa è stata ben documentata in letteratura.<sup>1, 2, 3, 4</sup> Il fattore II c.\*97G>A era prima denominato G20210A o 20210G>A4 ed è comunemente noto come protrombina oppure, come nel test Xpert Factor II & Factor V, come fattore II (G20210A). La mutazione del fattore II (G20210A) riguarda la sostituzione di una G (guanina) con una A (adenina) alla posizione del nucleotide 20210 nella regione 3' non trascritta del gene ed è associata a un incremento dei livelli di protrombina nel plasma.

Il fattore V c.1601G>A (p.Arg534Gln) era prima denominato G1691A o Arg506Gln ed è comunemente noto come fattore V di Leiden o FVL<sup>5</sup> oppure, come nel test Xpert Factor II & Factor V, come fattore V (G1691A). Il fattore V di Leiden (G1691A) riguarda la sostituzione di una G con una A alla posizione del nucleotide 1691 del gene del fattore V, con conseguente sostituzione dell'aminoacido arginina con glutammina nella proteina del fattore V, causando resistenza al taglio da parte della proteina C attivata (PCA).

Le mutazioni del fattore II (G20210A) e del fattore V di Leiden (G1691A) sono presenti, rispettivamente, nel 2% e nel 5% della popolazione generale.<sup>6</sup>

## 5 Principio della procedura

Il sistema GeneXpert Dx automatizza e integra la purificazione dei campioni, l'amplificazione degli acidi nucleici e il rilevamento della sequenza bersaglio in sangue intero usando i saggi di PCR in tempo reale. Il sistema è composto da uno strumento, un personal computer, un lettore di codici a barre palmare e un software precaricato per l'esecuzione dei test e la visualizzazione dei risultati. Il sistema richiede l'impiego delle cartucce monouso contenenti i reagenti della PCR, dentro le quali si svolge l'omonimo processo (reazione a catena della polimerasi). Poiché le cartucce sono autonome, non sussiste alcun rischio di contaminazione crociata tra campioni. Per una descrizione completa del sistema, vedere il *Manuale dell'operatore del sistema GeneXpert Dx*.

Il saggio Xpert HemosIL Factor II & Factor V include reagenti per la rilevazione degli alleli normali e mutanti del fattore II e del fattore V da sangue intero anticoagulato con sodio citrato o EDTA. Ogni cartuccia del saggio contiene inoltre un controllo per la verifica della sonda (Probe Check Control, PCC) il quale accerta la reidratazione dei reagenti, il riempimento delle provette per PCR nella cartuccia, l'integrità della sonda e la stabilità dei coloranti.

I primer e le sonde nel saggio Xpert HemosIL Factor II & Factor V determinano il genotipo del gene del fattore II (alla posizione 20210) e/o del gene del fattore V (alla posizione 1691).

## 6 Reagenti e strumenti

### Materiale fornito



Il kit del saggio Xpert HemosIL Factor II & Factor V contiene una quantità di reagenti sufficiente a trattare 10 campioni di analisi o di controllo qualità. Il contenuto del kit è il seguente.

### Cartucce del saggio Xpert HemosIL Factor II & Factor V con provette di reazione integrate 10

- |                                              |                             |
|----------------------------------------------|-----------------------------|
| • Microsfera 1 e Microsfera 2 (liofilizzate) | 1 di ciascuna per cartuccia |
| • Reagente 1                                 | 3,0 ml per cartuccia        |
| • Reagente 2 (cloruro di guanidinio)         | 3,0 ml per cartuccia        |

### CD

**1 per kit**

- File di definizione del saggio (Assay Definition File, ADF)
- Istruzioni per l'importazione degli ADF nel software GeneXpert
- Istruzioni per l'uso (foglietto illustrativo)

### Nota

Le schede dati di sicurezza (Safety Data Sheets, SDS) sono disponibili nei siti [www.cepheid.com](http://www.cepheid.com) o [www.cepheidinternational.com](http://www.cepheidinternational.com) nella scheda **ASSISTENZA (SUPPORT)**.

### Nota

L'albumina di siero bovino (BSA) presente nelle microsfele di questo prodotto è stata prodotta esclusivamente da plasma bovino di origine statunitense. Gli animali non sono stati nutriti con proteine di ruminanti o altre proteine animali; gli animali hanno superato i test ante e post mortem. Durante la lavorazione, il materiale non è stato miscelato con altro materiale animale.

## 7 Conservazione e manipolazione



- Le cartucce del saggio Xpert Factor II & Factor V vanno conservate a una temperatura compresa tra 2 °C e 28 °C.
- Non usare le cartucce oltre la data di scadenza.
- Aprire le cartucce solo immediatamente prima di eseguire il test.
- Usare la cartuccia entro 30 minuti dall'apertura del coperchio.

## 8 Materiali necessari ma non forniti

- Sistema GeneXpert Dx (il numero di catalogo varia a seconda della configurazione): strumento GeneXpert, computer, lettore di codici a barre e *Manuale dell'operatore del sistema GeneXpert Dx*.

### Nota

Il numero di catalogo del sistema GeneXpert Dx varia a seconda della configurazione. Rivolgersi a Cepheid per la configurazione desiderata e il corrispondente numero di catalogo.

- Software GeneXpert Dx versione 4.0 o superiore.
- Pipetta per la dispensazione di 50 µl di sangue anticoagulato con sodio citrato o EDTA, dotata di puntali con filtro resistente ad aerosol.
- Controllo DNA HemosIL FII & FV (P/N 0020003500).

## 9 Avvertenze e precauzioni



- Tutti i campioni biologici di analisi, comprese le cartucce usate, devono essere trattati come potenziali veicoli di agenti infettivi. Poiché, nella maggior parte dei casi, è impossibile distinguere i potenziali veicoli di infezione, tutti i campioni biologici di analisi devono essere trattati attenendosi alle precauzioni standard. Le linee guida per la manipolazione dei campioni di analisi sono disponibili presso i Centers for Disease Control and Prevention<sup>7</sup> statunitensi e il Clinical and Laboratory Standards Institute<sup>8</sup>.
- Durante il trattamento di sostanze chimiche e la manipolazione di campioni biologici, rispettare le procedure di sicurezza previste dalla struttura sanitaria di appartenenza.
- Usare le cartucce entro la data di scadenza riportata sul kit.
- Aprire il coperchio della cartuccia Xpert HemosIL Factor II & Factor V solo per aggiungere il campione.
- Non utilizzare le cartucce dopo averle fatte cadere o agitate in seguito all'aggiunta del campione.
- Non utilizzare cartucce con provette di reazione danneggiate (ad es., piegate o rotte).
- ② • Ogni cartuccia monouso del saggio Xpert HemosIL Factor II & Factor V viene utilizzata per l'esecuzione di un solo test. Non riutilizzare le cartucce usate.
- I campioni biologici di analisi, i dispositivi di trasferimento e le cartucce usate devono essere trattati come potenziali veicoli di agenti infettivi adottando le precauzioni standard. Attenersi alle procedure di smaltimento dei rifiuti ambientali della propria struttura sanitaria per il corretto smaltimento delle cartucce usate e dei reagenti non utilizzati. Questi materiali potrebbero essere considerati rifiuti chimici pericolosi per il cui smaltimento sarà necessario attenersi a specifiche procedure nazionali o regionali. Se i regolamenti nazionali o regionali non forniscono istruzioni chiare sul corretto smaltimento, i campioni biologici di analisi e le cartucce usate devono essere smaltiti in base alle linee guida dell'OMS (Organizzazione mondiale della sanità) sulla manipolazione e lo smaltimento dei rifiuti medici.
- 12/28 °C • Conservare il kit del saggio Xpert HemosIL Factor II & Factor V tra 2 °C e 28 °C.
- Aprire il coperchio della cartuccia solo immediatamente prima di eseguire il test.
- Nel caso di aumento della pressione interna della cartuccia oltre il limite prestabilito dal produttore, la sessione si interrompe automaticamente e viene segnalato un risultato di **ERRORE (ERROR)**.

## 10 Pericoli chimici<sup>9, 10</sup>

- Pittogramma di pericolo UN GHS:
- Avvertenza: ATTENZIONE
- **Indicazioni di pericolo UN GHS**
  - Può essere nocivo se ingerito.
  - Provoca irritazione cutanea.
  - Provoca grave irritazione oculare.
- **Frase di prudenza UN GHS**
  - **Prevenzione**
    - Lavare accuratamente dopo l'uso.
    - Indossare guanti/indumenti protettivi/proteggere gli occhi/il viso.
  - **Risposta**
    - IN CASO DI CONTATTO CON LA PELLE: lavare abbondantemente con acqua e sapone.
    - Trattamento specifico (vedere le informazioni supplementari di pronto soccorso).
    - In caso di irritazione della pelle: consultare un medico
    - Togliersi di dosso gli indumenti contaminati e lavarli prima di indossarli nuovamente.
    - IN CASO DI CONTATTO CON GLI OCCHI: sciacquare accuratamente per parecchi minuti. Togliere le eventuali lenti a contatto se è agevole farlo. Continuare a sciacquare.
    - Se l'irritazione degli occhi persiste: consultare un medico
    - In caso di malessere, contattare un CENTRO ANTIVELENI o un medico.

## 11 Raccolta e trasporto dei campioni di analisi



- Per raccogliere campioni di analisi adeguati, attenersi rigorosamente alle istruzioni fornite in questa sezione.
- La raccolta di sangue in provette con anticoagulante EDTA o sodio citrato deve essere eseguita solo da professionisti opportunamente addestrati e autorizzati.
- Non centrifugare né concentrare il campione di sangue tramite rimozione del plasma.



- Se il sangue è conservato a temperatura ambiente (tra 22 °C e 28 °C), deve essere trattato entro 24 ore. Se i campioni vengono conservati per più di 24 ore, è necessario mantenerli a una temperatura compresa tra 2 °C e 8 °C. Il sangue è stabile fino a 15 giorni se conservato tra 2 °C e 8 °C. I campioni di sangue possono anche essere conservati a -20 °C o -80 °C per massimo 3 mesi. Si consiglia l'uso di flaconcini speciali per la conservazione in congelatore.

### Nota

Far scongelare il sangue completamente fino a quando non raggiunge la temperatura ambiente. Si consiglia di non congelare/ scongelare il sangue più di una volta.

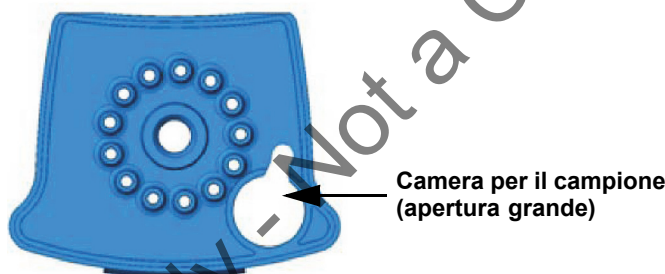
- Miscelare il campione, capovolgendolo per 5 volte, prima di dispensarlo nella cartuccia.

## 12 Procedura

### Preparazione della cartuccia

### Importante

**Iniziare il test entro 15 minuti dall'introduzione del campione nella cartuccia.**



**Figura 1. Cartuccia del saggio Xpert HemosIL Factor II & Factor V (vista dall'alto)**

Per inserire il campione nella cartuccia, procedere nel modo seguente.

1. Rimuovere la cartuccia dalla confezione. Non è necessario portare la cartuccia a temperatura ambiente prima dell'uso.
2. Miscelare il campione, capovolgendo la provetta più volte fino a ottenere un contenuto omogeneo.
3. Aprire il coperchio della cartuccia. Utilizzando una pipetta con puntale resistente ad aerosol, trasferire 50 µl di sangue anticoagulato con sodio citrato o EDTA sulla parete inferiore della camera del campione della cartuccia del saggio Xpert HemosIL Factor II & Factor V.
4. Chiudere il coperchio della cartuccia.

## 13 Avvio del test

### Importante

**Prima di iniziare il test, verificare che i file di definizione del saggio per i saggi Xpert HemosIL FII, Xpert HemosIL FV e Xpert HemosIL FII & FV siano stati importati nel software. In questa sezione sono elencati i passaggi principali di esecuzione del test. Per istruzioni dettagliate, vedere il *Manuale dell'operatore del sistema GeneXpert Dx*.**

### Nota

I passaggi da seguire possono variare se l'amministratore del sistema modifica il flusso di lavoro predefinito del sistema.

In questa sezione sono elencati i passaggi principali di esecuzione del saggio. Per istruzioni dettagliate, vedere il *Manuale dell'operatore del sistema GeneXpert Dx*.

1. Accendere lo strumento GeneXpert Dx e successivamente il computer. Il software GeneXpert si avvia automaticamente.
2. Effettuare l'accesso al software del sistema GeneXpert Dx inserendo il nome utente e la password.

3. Nella finestra del sistema GeneXpert Dx, fare clic su **Crea analisi (Create Test)**. Verrà visualizzata la finestra **Crea analisi (Create Test)**.
4. Eseguire la scansione del codice a barre sulla cartuccia.
5. Digitare l'**ID del campione (Sample ID)** nella casella corrispondente. Verificare che l'ID del campione (Sample ID) digitato sia quello corretto. In alternativa, eseguire la scansione del codice a barre del campione. L'ID del campione è associato ai risultati del test e viene riportato nella finestra **Visualizza risultati (View Results)** e su tutti i rapporti.

The screenshot shows the 'Crea analisi' window with the following details:

- ID paziente: P123456
- ID campione: S123456
- Table for assay selection:
 

Nome	Versione
Xpert HemosIL FV	1
Xpert HemosIL FV	1
Xpert HemosIL FII	1
Xpert HemosIL FII & FV Combo	1
- Seleziona saggio: Xpert HemosIL FV
- Selezionare il modulo: Xpert HemosIL FV
- ID lotto reagente: Xpert HemosIL FII & FV Combo
- Tipo di analisi: Campione
- Tipo di campione: Altro
- Altro tipo di campione: (empty field)
- Note: (empty text area)
- Buttons: Avvia analisi, Esegui scansione del codice a barre della cartuccia, Annulla

Figura 2. Finestra Crea analisi (Create Test)

6. Nel menu a discesa **Seleziona saggio (Select Assay)**, selezionare il saggio da eseguire.
7. Fare clic su **Avvia analisi (Start Test)**. Digitare la propria password nella finestra di dialogo visualizzata.
8. Aprire lo sportello del modulo dello strumento con la spia verde lampeggiante e caricare la cartuccia.
9. Chiudere lo sportello. Il test viene avviato e la spia verde smette di lampeggiare. Al termine del test, la spia si spegne.
10. Attendere che il sistema abbia sbloccato lo sportello del modulo prima di aprirlo, quindi rimuovere la cartuccia.
11. Smaltire le cartucce usate negli appositi contenitori per rifiuti biologici attenendosi alla prassi standard del proprio presidio.

## 14 Visualizzazione e stampa dei risultati

In questa sezione sono elencati i passaggi principali per la visualizzazione e la stampa dei risultati. Per istruzioni più dettagliate sulla visualizzazione e la stampa dei risultati, consultare il *Manuale dell'operatore del sistema GeneXpert Dx*.

1. Per visualizzare i risultati, fare clic sull'icona Visualizza risultati (View Results).
2. Una volta completato il test, fare clic sul pulsante **Rapporto (Report)** nella finestra Visualizza risultati (View Results) per visualizzare e/o generare un file di rapporto in formato PDF.

## 15 Controllo qualità

### CONTROL

Ogni test include una verifica della sonda (Probe Check Control, PCC).

**Controllo per la verifica della sonda (PCC)** - Prima che inizi la reazione PCR, il sistema GeneXpert Dx misura il segnale di fluorescenza emesso dalle sonde, allo scopo di monitorare la reidratazione delle microsferi, il riempimento delle provette di reazione, l'integrità della sonda e la stabilità dei coloranti. La verifica della sonda si considera riuscita qualora siano soddisfatti i criteri di accettazione assegnati.

**Controlli esterni** - Il controllo HemosIL FII & FV DNA (P/N 0020003500) è stato progettato e convalidato per il programma di controllo qualità esterno del saggio Xpert HemosIL FII & FV.

In alternativa, possono essere utilizzati campioni di sangue intero Fattore II/Fattore V normale, eterozigote o omozigote (in sodio citrato o EDTA come anticoagulante) per l'addestramento, il test di rendimento e come controllo di qualità esterno per il saggio Xpert HemosIL Factor II & Factor V. È necessario utilizzare materiale cellulare; non usare DNA estratto. Possono essere usati controlli esterni, in conformità con gli organismi di accreditamento locali, regionali e nazionali pertinenti.

## 16 Interpretazione dei risultati

Il sistema GeneXpert Dx è in grado di interpretare i risultati dai segnali fluorescenti misurati e dagli algoritmi incorporati per l'identificazione dei genotipi; tali risultati vengono visualizzati nelle finestre Visualizza risultati (View Results) riportate di seguito.

Il risultato NORMALE (NORMAL) indica wildtype (nessuna mutazione rilevata); il risultato OMOZIGOTE (HOMOZYGOUS) indica "mutante omozigote" (mutazione rilevata in entrambi gli alleli); il risultato ETEROZIGOTE (HETEROZYGOUS) indica "mutante eterozigote" (mutazione rilevata in un allele).

Per i risultati Xpert HemosIL FII (da Figura 3 a Figura 5).

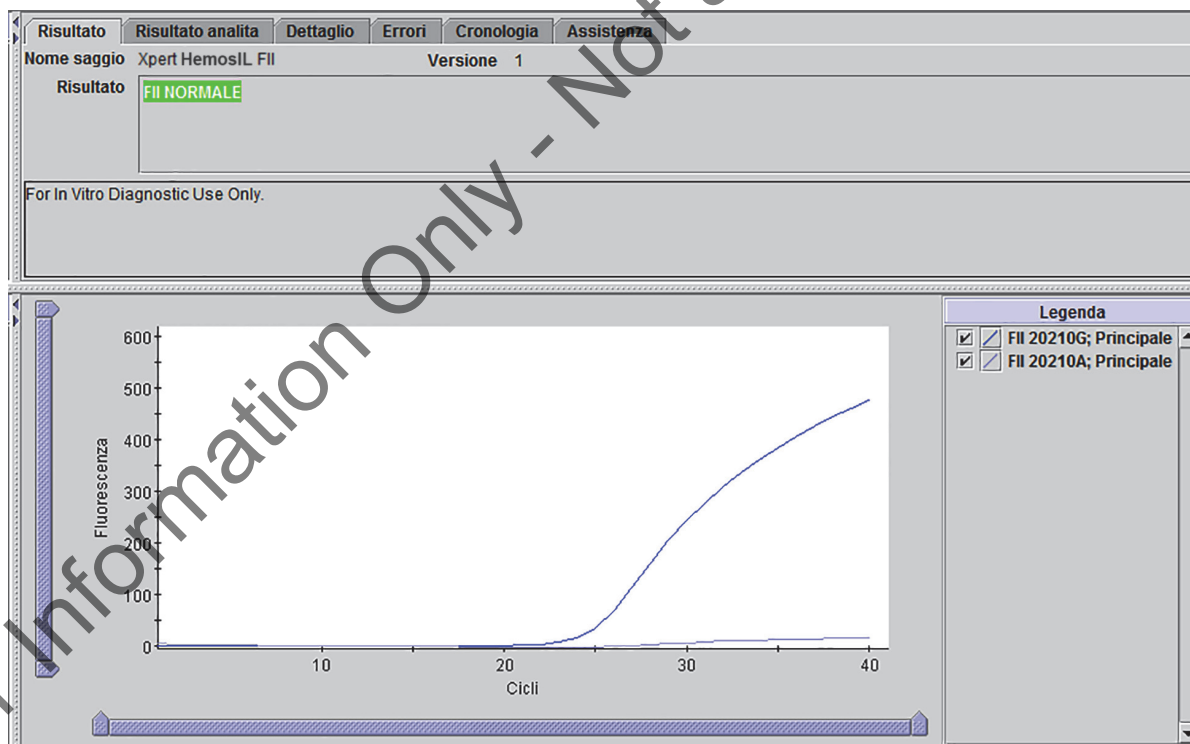


Figura 3. Sistema GeneXpert Dx — Finestra di visualizzazione dei risultati: risultato per fattore II normale



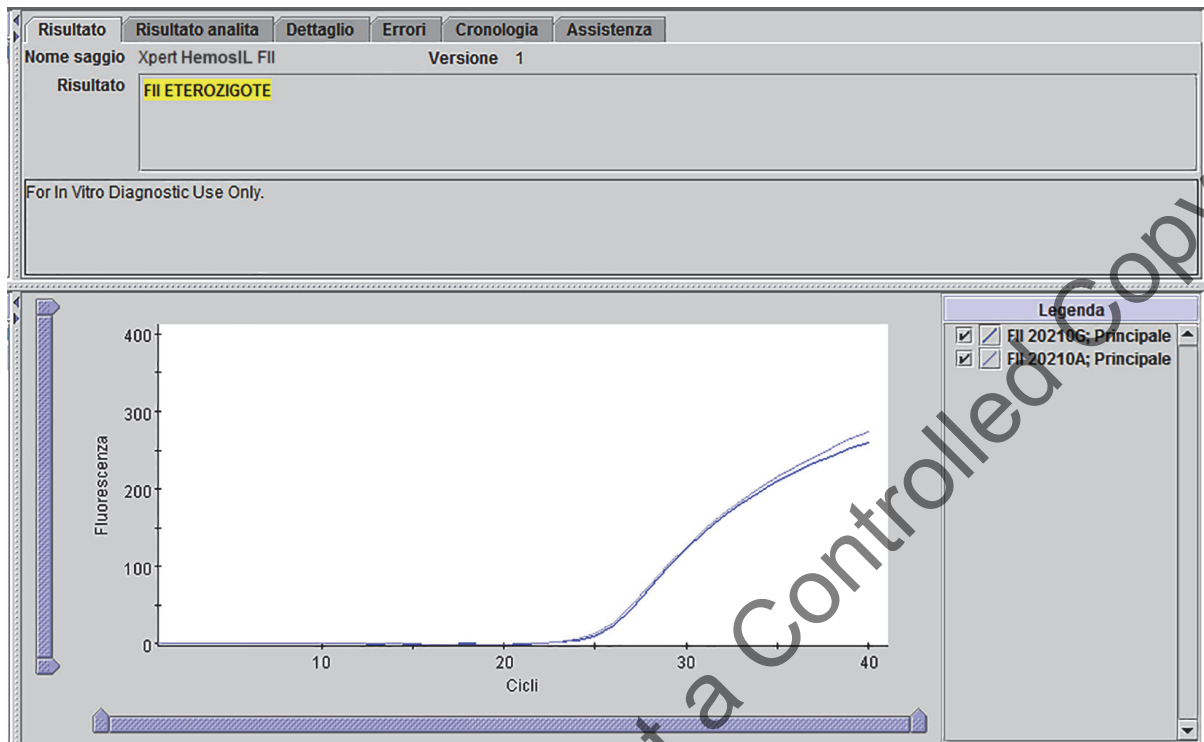


Figura 4. Sistema GeneXpert Dx — Finestra di visualizzazione dei risultati: risultato per fattore II eterozigote

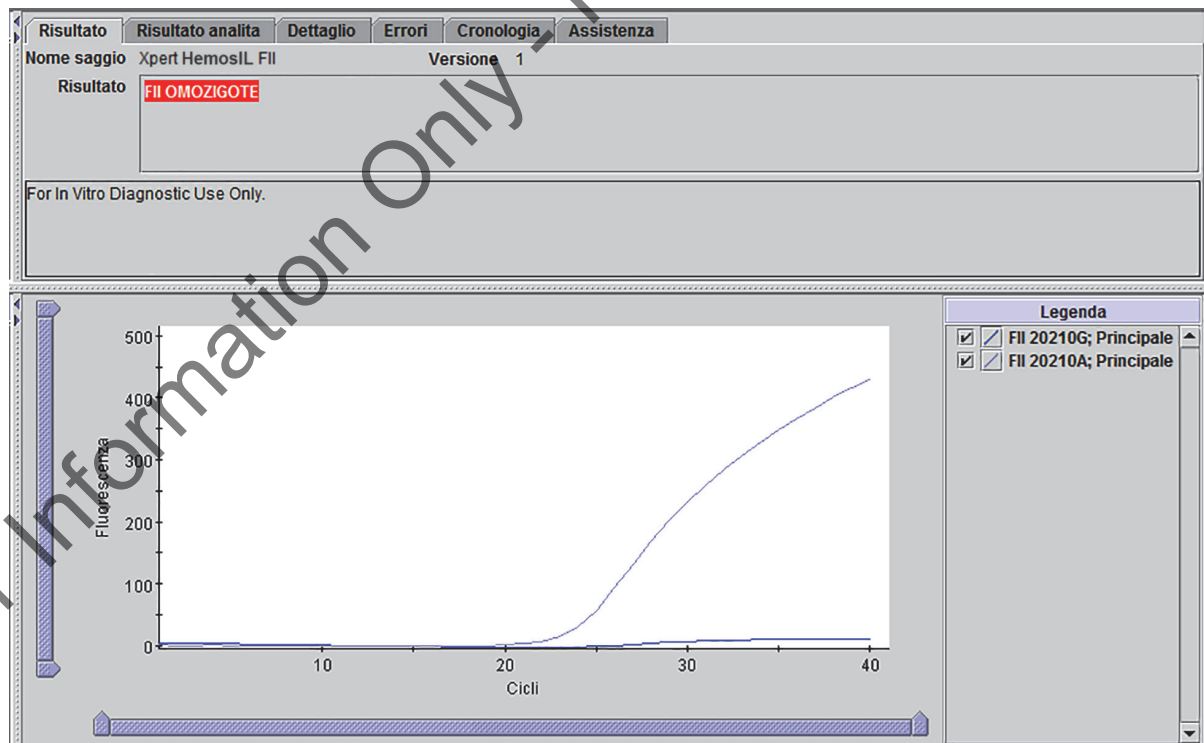


Figura 5. Sistema GeneXpert Dx — Finestra di visualizzazione dei risultati: risultato per fattore II omozigote

Per i risultati Xpert HemosIL FV quando dall'elenco a discesa è selezionato il tipo di saggio FV, vedere da Figura 6 a Figura 8.

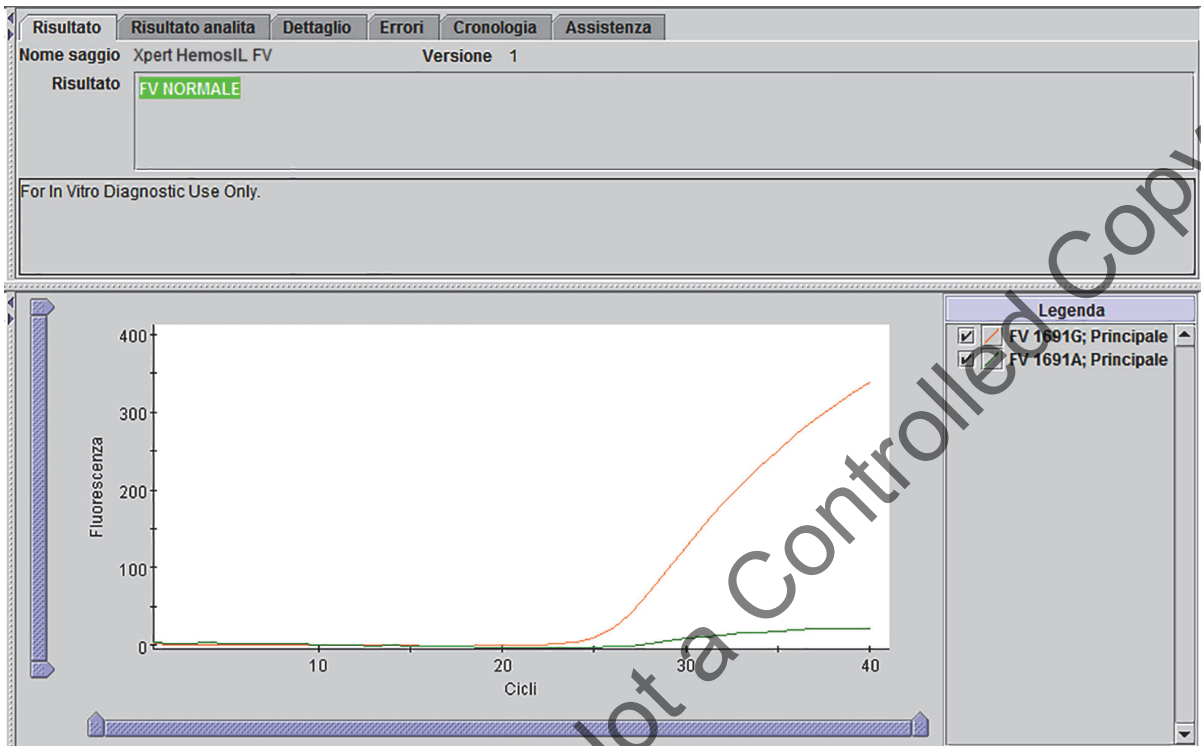


Figura 6. Sistema GeneXpert Dx — Finestra di visualizzazione dei risultati: risultato per fattore V normale

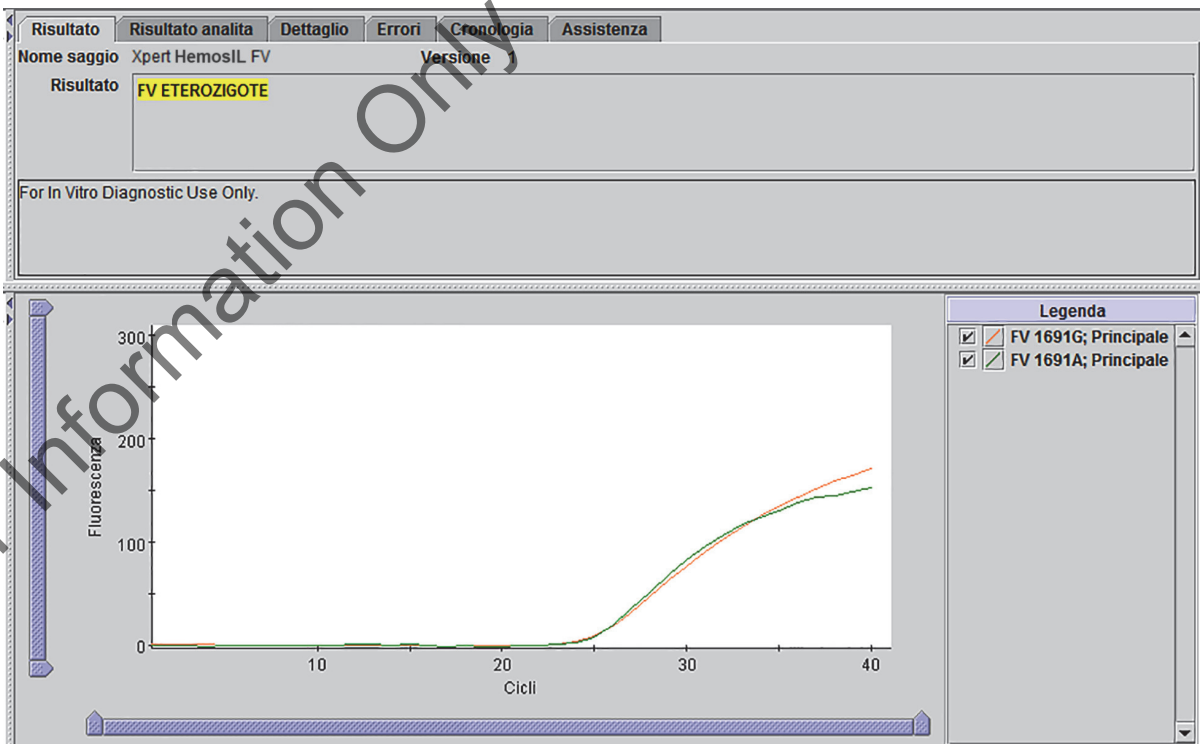
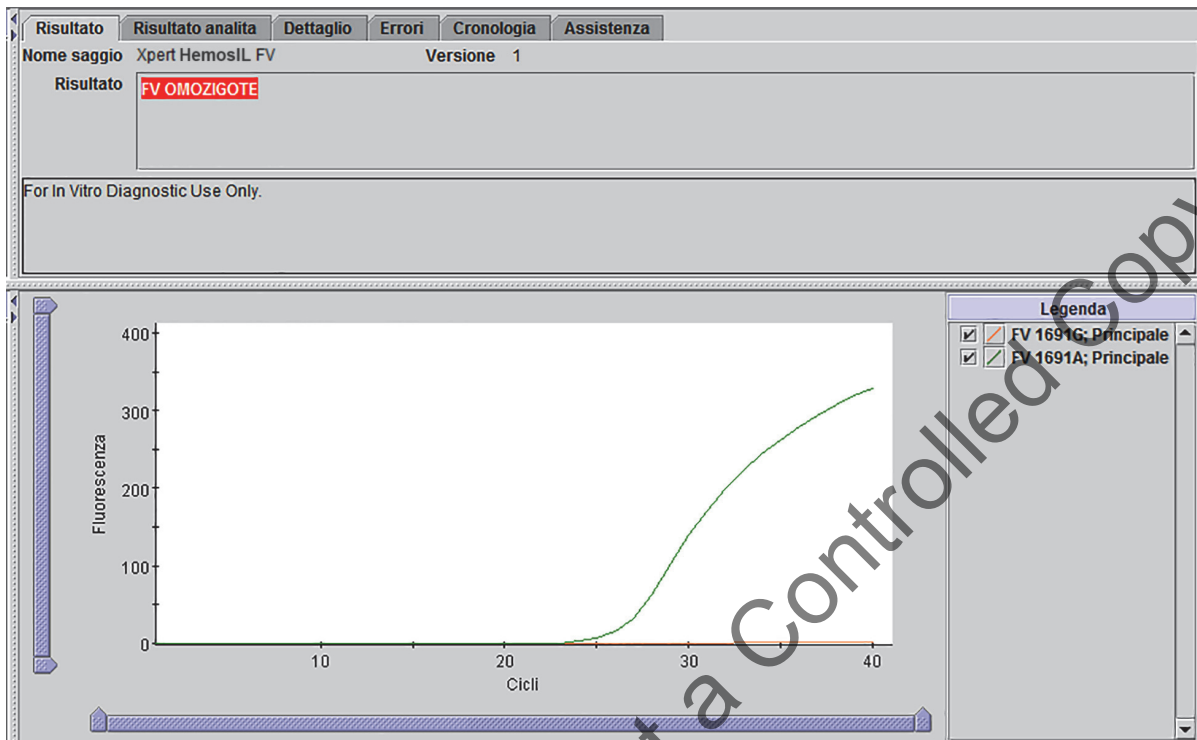
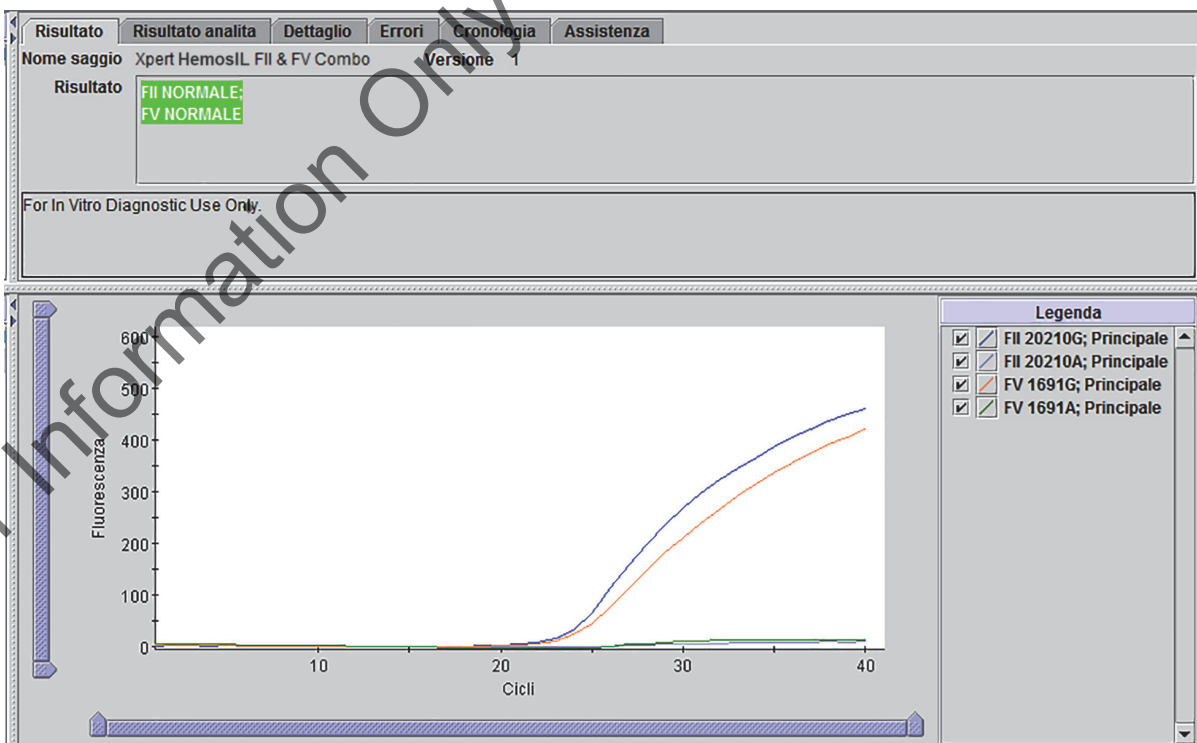


Figura 7. Sistema GeneXpert Dx — Finestra di visualizzazione dei risultati: risultato per fattore V eterozigote



**Figura 8. Sistema GeneXpert Dx — Finestra di visualizzazione dei risultati:  
risultato per fattore V omozigote**

Per i risultati Xpert HemosIL FII & FV quando dall'elenco a discesa è selezionato il tipo di saggio FII & FV Combo, vedere da Figura 9 a Figura 11.



**Figura 9. Sistema GeneXpert Dx — Finestra di visualizzazione dei risultati:  
risultato per fattore II e fattore V normali**

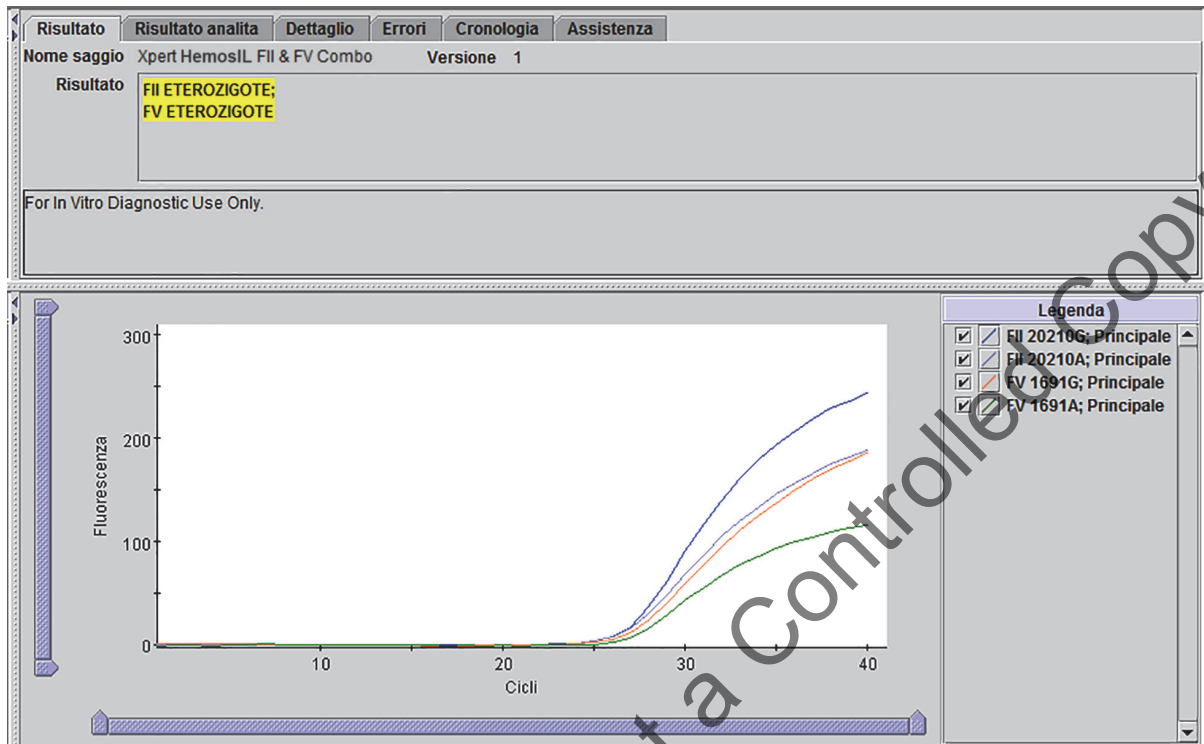


Figura 10. Sistema GeneXpert Dx — Finestra di visualizzazione dei risultati: risultato per fattore II e fattore V eterozigoti

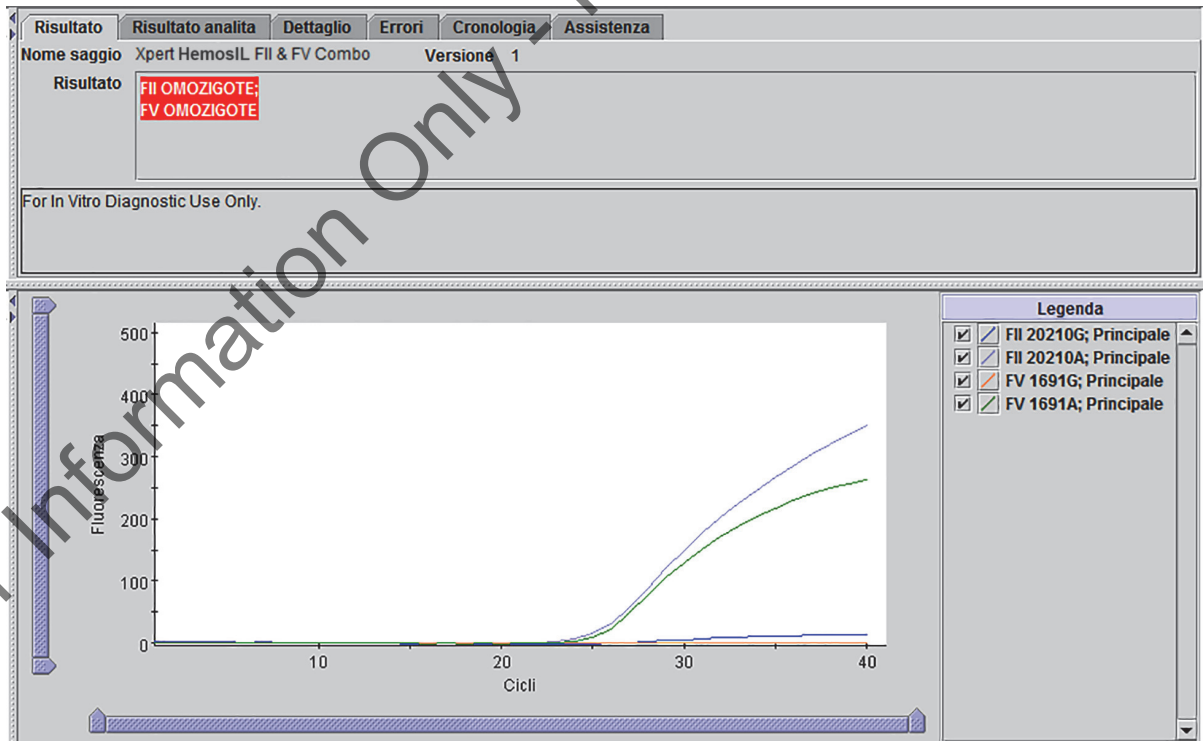


Figura 11. Sistema GeneXpert Dx — Finestra di visualizzazione dei risultati: risultato per fattore II e fattore V omozigoti

**NON VALIDO (INVALID)**

La presenza o l'assenza degli alleli del fattore II/fattore V normali e mutanti non può essere determinata; ripetere il saggio in base alle istruzioni seguenti. Il campione non è stato trattato correttamente o la PCR è stata inibita.

- **NON VALIDO (INVALID)** — La presenza o l'assenza degli alleli del fattore II/fattore V normali e mutanti non può essere determinata.
- Verifica della sonda — AMMESSO (PASS): tutti i risultati della verifica della sonda sono validi.

**ERRORE (ERROR)**

La presenza o l'assenza degli alleli del fattore II/fattore V normali e mutanti non può essere determinata; ripetere il saggio in base alle istruzioni seguenti. Il controllo per la verifica della sonda non ha avuto esito positivo e il saggio è stato interrotto, probabilmente perché è stato rilevato il riempimento inadeguato di una provetta di reazione o un problema di integrità della sonda. Gli errori possono essere causati anche dal superamento dei limiti massimi di pressione o dal guasto di un componente del sistema.

- **ERRORE (ERROR)**
  - Verifica della sonda — RESPINTA\* (FAIL); uno o più risultati della verifica della sonda sono stati respinti.
- \*Se la verifica della sonda è riuscita, l'errore è dovuto a un guasto di un componente del sistema.

**NESSUN RISULTATO (NO RESULT)**

La presenza o l'assenza degli alleli del fattore II/fattore V normali e mutanti non può essere determinata; ripetere il saggio in base alle istruzioni seguenti. La quantità di dati raccolta non è sufficiente per generare i risultati del saggio (l'operatore, ad esempio, ha interrotto l'esecuzione di un test).

- **NESSUN RISULTATO (NO RESULT)**
- Verifica della sonda — NA (non applicabile)

**17 Motivi per ripetere il saggio**

Ripetere il saggio usando una nuova cartuccia (non riutilizzare la cartuccia già usata) e una nuova aliquota di sangue intero anticoagulato con citrato di sodio o EDTA.

- Un risultato **NON VALIDO (INVALID)** indica che il campione non è stato trattato correttamente o che la PCR è stata inibita.
- Un risultato **ERRORE (ERROR)** indica che il controllo per la verifica della sonda non ha avuto esito positivo e il saggio è stato interrotto, probabilmente perché è stato rilevato il riempimento inadeguato di una provetta di reazione o un problema di integrità della sonda. Gli errori possono essere causati anche dal superamento dei limiti massimi di pressione o dal guasto di un componente del sistema.
- **NESSUN RISULTATO (NO RESULT)** indica che i dati raccolti sono insufficienti. Ad esempio, l'operatore ha interrotto un test in corso.

**18 Limitazioni**

- Le prestazioni del saggio Xpert HemosIL Factor II & Factor V sono state convalidate seguendo esclusivamente le procedure indicate in questo foglietto illustrativo. Qualsiasi modifica apportata a queste procedure può alterare le prestazioni dell'analisi. I risultati del saggio Xpert HemosIL Factor II & Factor V devono essere interpretati in concomitanza con altri dati clinici o di laboratorio a disposizione del medico.
- Mutazioni rare del fattore V (A1696G, G1689A e A1692C) e qualsiasi altro SNP (polimorfismo di singolo nucleotide) nella regione di legame della sonda possono interferire con il rilevamento del target e causare un risultato **NON VALIDO (INVALID)**.
- Altre mutazioni rare del fattore II nella regione di legame della sonda possono interferire con il rilevamento del target e produrre un risultato **NON VALIDO (INVALID)** oppure un falso risultato di mutante OMOZIGOTE (HOMOZYGOUS) se si verificano in modo concorde alla mutazione del fattore II c.\*97G>A (G20210A).
- Le prestazioni del saggio Xpert HemosIL Factor II & Factor V non sono state valutate con campioni provenienti da pazienti pediatrici.
- È possibile ottenere risultati errati se si raccolgono, manipolano, conservano incorrettamente o si scambiano i campioni di analisi. Per evitare risultati erranei, è necessario attenersi scrupolosamente alle istruzioni descritte in questa confezione.

**19 Sostanze interferenti**

I campioni di sangue provenienti da pazienti in eparinoterapia ed emotrasfusi possono interferire con i risultati della PCR e comportare risultati non validi o erranei.

Gli studi delle potenziali sostanze interferenti hanno dimostrato l'assenza di inibizione fino a 14,3 unità USP/ml di eparina, 16 mg/dl di bilirubina, 250 mg/dl di colesterolo aggiunto o 1.932 mg/dl di trigliceridi totali (lipidi). Non è stata osservata alcuna inibizione nel caso di campioni di sangue intero sottoposti a un ciclo di congelamento/scongelo (sangue emolizzato). Non è stata osservata alcuna significatività statistica tra campioni di analisi equivalenti trattati con EDTA o sodio citrato.

## 20 Valori attesi

Le mutazioni del fattore II (G20210A) e del fattore V di Leiden (G1691A) sono presenti, rispettivamente, nel 2% e nel 5% della popolazione generale.<sup>6</sup>

## 21 Caratteristiche prestazionali

### 21.1 Prestazioni cliniche

Le caratteristiche prestazionali del saggio Xpert HemosIL Factor II & Factor V sono state determinate in uno studio sperimentale multicentrico svolto in sette istituti, nel quale sono stati messi a confronto il saggio Xpert HemosIL Factor II & Factor V e il sequenziamento bidirezionale.

I campioni di analisi includevano quelli per cui il trattamento di routine richiedeva la raccolta di sangue intero per l'analisi del fattore II e/o del fattore V. I campioni sono stati prima analizzati con metodi di routine usati in ciascun laboratorio partecipante e quindi sono state prelevate aliquote per lo studio dei test eseguiti con il saggio Xpert HemosIL Factor II & Factor V su GeneXpert. Il DNA eccedente è stato inviato a un laboratorio esterno per il sequenziamento bidirezionale.

Le prestazioni del saggio Xpert HemosIL Factor II & Factor V sono state calcolate in relazione ai risultati del sequenziamento bidirezionale.

### 21.2 Risultati complessivi

#### Saggio Xpert HemosIL Factor II & Factor V

Un totale di 1.018 campioni è stato analizzato per il fattore II mediante il saggio Xpert HemosIL Factor II & Factor V e mediante sequenziamento bidirezionale. Un totale di 1.014 campioni è stato analizzato per il fattore V mediante il saggio Xpert HemosIL Factor II & Factor V e mediante sequenziamento bidirezionale. Per compensare la dimensione dei campioni omozigoti, sono stati analizzati anche sei campioni di DNA genomico umano omozigoti per il fattore II e cinque omozigoti per il fattore V, mediante il saggio Xpert HemosIL Factor II & Factor V e mediante sequenziamento bidirezionale. I risultati sono presentati nella Tabella 1.

Il saggio Xpert HemosIL Factor II & Factor V ha dimostrato un'accuratezza complessiva del 99,3% rispetto al sequenziamento bidirezionale, sia per il fattore II che per il fattore V.

**Tabella 1. Confronto delle prestazioni di Xpert HemosIL e del sequenziamento bidirezionale**

Genotipo	N. di campioni analizzati	N. di rilevazioni corrette alla prima esecuzione	N. di rilevazioni non valide <sup>a</sup> alla prima esecuzione	Concordanza alla prima esecuzione	N. di rilevazioni corrette compresa la riesecuzione	N. di rilevazioni non valide <sup>a</sup> alla riesecuzione	Concordanza dopo la riesecuzione
Fattore II G20210A							
WT <sup>d</sup>	968	927	41	95,8%	963	5	99,5%
ETE	50	48	2	96,0%	48	2	96,0%
OMO	7	7	0	100,0%	7	0	100%
<b>Totale</b>	<b>1.025<sup>b</sup></b>	<b>982</b>	<b>43</b>	<b>95,8%</b>	<b>1.018</b>	<b>7</b>	<b>99,3%</b>
Fattore V G1691A							
WT	895	860	35	96,1%	889	6	99,3%
ETE	114	108	6	94,7%	113	1	99,1%
OMO	12	11	1	91,7%	12	0	100,0%
<b>Totale</b>	<b>1.021<sup>c</sup></b>	<b>979</b>	<b>42</b>	<b>95,9%</b>	<b>1.014</b>	<b>7</b>	<b>99,3%</b>

a. Nessun risultato discordante. I risultati non validi si riferiscono a risultati "indeterminati"

b. Per 4 campioni di analisi non erano disponibili i risultati del sequenziamento bidirezionale per il fattore II

c. Per 8 campioni di analisi non erano disponibili i risultati del sequenziamento bidirezionale per il fattore V

d. WT (wildtype) è normale

**Specificità analitica**

Per la valutazione della specificità analitica del saggio Xpert HemosIL Factor II & Factor V, sono state sintetizzate sequenze geniche normali contenenti polimorfismi di singolo nucleotide (Single Nucleotide Polymorphism, SNP) silenti, all'interno e fuori dalla regione di legame della sonda. La presenza di SNP supplementare all'interno della regione di legame della sonda ha comportato, nella maggior parte dei casi, un risultato non valido. Quando è stato ottenuto un risultato valido, esso ha fornito il genotipo corretto.

La presenza di SNP supplementare fuori dalla regione di legame della sonda ha comportato la rilevazione corretta del genotipo.

**Sensibilità analitica**

Sono stati svolti studi per determinare la quantità minima e massima di campione di analisi del paziente, per sangue intero anticoagulato sia con EDTA che con sodio citrato, necessaria per ottenere un genotipo corretto, tale per cui il limite inferiore dell'intervallo di confidenza al 95% per la frazione stimata delle "rilevazioni corrette" fosse superiore al 95%.

I campioni di sangue anticoagulato con EDTA e sodio citrato (n=20) sono stati analizzati in 8 volumi variabili tra 5 µl e 250 µl.

Sebbene il saggio possa tollerare volumi variabili tra 15 µl e 100 µl, il volume consigliato per ridurre al minimo il rischio di errori associati a carenza/eccesso di campione è di 50 µl.

**Riproducibilità**

Un pannello di 5 campioni di analisi, ognuno corrispondente a uno dei tipi elencati di seguito, è stato analizzato in duplicato da due diversi operatori nel corso di 5 giorni diversi in ciascuno dei tre centri (5 campioni di analisi x 2 volte/giorno x 2 operatori per centro x 5 giorni x 3 centri). In ognuno dei 3 siti di analisi è stato usato un lotto di kit del saggio Xpert HemosIL Factor II & Factor V proveniente dallo stesso lotto. I saggi Xpert HemosIL Factor II & Factor V sono stati condotti in conformità con la procedura Xpert HemosIL Factor II & Factor V. I risultati sono riepilogati da Tabella 2 a Tabella 5.

Pannello dello studio:

1. un campione con alleli normali (wildtype) per entrambi i fattori II e V;
2. un campione eterozigote per la mutazione del fattore II (ovvero, un allele mutante e un allele wildtype per il gene del fattore II) e con alleli normali (wildtype) per il fattore V;
3. un campione omozigote per la mutazione del fattore II (ovvero, due alleli mutanti per il gene del fattore II) e con alleli normali (wildtype) per il fattore V;
4. un campione con alleli normali (wildtype) per il fattore II e omozigoti per la mutazione del fattore V (ovvero, due alleli mutanti per il gene del fattore V);
5. un campione con alleli normali (wildtype) per il fattore II ed eterozigoti per la mutazione del fattore V (ovvero, un allele mutante e un allele wildtype per il gene del fattore V).

Nella Tabella 2 e nella Tabella 3 è riportato un riepilogo dei risultati suddivisi per sito. Non sono state osservate differenze statisticamente significative tra i siti, per il fattore II (p=1,000) o per il fattore V (p=1,000).

**Tabella 2. Riepilogo dei risultati di riproducibilità per sito - Fattore II**

ID campione di analisi	Centro 1	Centro 2	Centro 3	% concordanza totale per campione
<b>NOR</b>	100% (20/20)	100% (20/20)	100% (20/20)	100% (60/60)
<b>Fattore II ETE/Fattore V NOR</b>	100% (20/20)	100% (20/20)	100% (20/20)	100% (60/60)
<b>Fattore II OMO/Fattore V NOR</b>	100% (20/20)	100% (20/20)	100% (20/20)	100% (60/60)
<b>Fattore II NOR/Fattore V OMO</b>	100% (20/20)	100% (20/20)	100% (20/20)	100% (60/60)
<b>Fattore II NOR/Fattore V ETE</b>	100% (20/20)	100% (20/20)	95,0% (19/20) <sup>a</sup>	98,3% (59/60) <sup>a</sup>
<b>% concordanza totale per sito</b>	100% (60/60)	100% (60/60)	98,3% (59/60) <sup>a</sup>	99,7% (299/300) <sup>a</sup>

a. Nessun risultato discordante. Un campione è risultato indeterminato dopo la riesecuzione del test

Tabella 3. Riepilogo dei risultati di riproducibilità per sito - Fattore V

ID campione di analisi	Centro 1	Centro 2	Centro 3	% concordanza totale per campione
NOR	100% (20/20)	100% (20/20)	100% (20/20)	100% (60/60)
Fattore II ETE/Fattore V NOR	100% (20/20)	100% (20/20)	100% (20/20)	100% (60/60)
Fattore II OMO/Fattore V NOR	100% (20/20)	100% (20/20)	100% (20/20)	100% (60/60)
Fattore II NOR/Fattore V OMO	100% (20/20)	100% (20/20)	100% (20/20)	100% (60/60)
Fattore II NOR/Fattore V ETE	100% (20/20)	100% (20/20)	95,0% (19/20) <sup>a</sup>	98,3% (59/60) <sup>a</sup>
% concordanza totale per sito	100% (60/60)	100% (60/60)	98,3% (59/60) <sup>a</sup>	99,7% (299/300) <sup>a</sup>

a. Nessun risultato discordante. Un campione è risultato indeterminato dopo la riesecuzione del test

Nella Tabella 4 e nella Tabella 5 è riportato un riepilogo dei risultati suddivisi per operatore. Non sono state osservate differenze statisticamente significative tra i siti, per il fattore II ( $p=1,000$ ) o per il fattore V ( $p=1,000$ ).

Tabella 4. Riepilogo dei risultati di riproducibilità per operatore - Fattore II

ID campione di analisi	Centro 1		Centro 2		Centro 3		% concordanza totale per campione
	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)
Fattore II ETE/Fattore V NOR	100% (10/10)	100% (10/10)	100% (10/10)	100% (10/10)	100% (10/10)	100% (10/10)	100% (60/60)
Fattore II OMO/Fattore V NOR	100% (10/10)	100% (10/10)	100% (10/10)	100% (10/10)	100% (10/10)	100% (10/10)	100% (60/60)
Fattore II NOR/Fattore V OMO	100% (10/10)	100% (10/10)	100% (10/10)	100% (10/10)	100% (10/10)	100% (10/10)	100% (60/60)
Fattore II NOR/Fattore V ETE	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>
% concordanza totale per operatore	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. Nessun risultato discordante. Un campione è risultato indeterminato dopo la riesecuzione del test

Tabella 5. Riepilogo dei risultati di riproducibilità per operatore - Fattore V

ID campione di analisi	Centro 1		Centro 2		Centro 3		% concordanza totale per campione
	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)
Fattore II ETE/Fattore V NOR	100% (10/10)	100% (10/10)	100% (10/10)	100% (10/10)	100% (10/10)	100% (10/10)	100% (60/60)
Fattore II OMO/Fattore V NOR	100% (10/10)	100% (10/10)	100% (10/10)	100% (10/10)	100% (10/10)	100% (10/10)	100% (60/60)
Fattore II NOR/Fattore V OMO	100% (10/10)	100% (10/10)	100% (10/10)	100% (10/10)	100% (10/10)	100% (10/10)	100% (60/60)
Fattore II NOR/Fattore V ETE	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>
% concordanza totale per operatore	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. Nessun risultato discordante. Un campione è risultato indeterminato dopo la riesecuzione del test



Allo scopo di valutare la riproducibilità inter-lotto, il pannello di 5 campioni di analisi sopra descritto è stato analizzato due volte al giorno per 5 giorni di analisi, utilizzando ognuno dei tre lotti del saggio presso un singolo sito di analisi (5 campioni di analisi x 2 sessioni al giorno x 3 lotti x 5 giorni). Nella Tabella 6 e nella Tabella 7 è riportato un riepilogo dei risultati suddivisi per lotto. Non sono state osservate differenze statisticamente significative tra i lotti, per il fattore II ( $p=1,000$ ) o per il fattore V ( $p=1,000$ ).

**Tabella 6. Riepilogo dei risultati di riproducibilità per lotto - Fattore II**

ID campione di analisi	Lotto 1	Lotto 2	Lotto 3	% concordanza totale per campione
<b>NOR</b>	100% (10/10)	100% (10/10)	100% (10/10)	100% (30/30)
<b>Fattore II ETE/Fattore V NOR</b>	100% (10/10)	100% (10/10)	100% (10/10)	100% (30/30)
<b>Fattore II OMO/Fattore V NOR</b>	100% (10/10)	100% (10/10)	100% (10/10)	100% (30/30)
<b>Fattore II NOR/Fattore V OMO</b>	100% (10/10)	100% (10/10)	100% (10/10)	100% (30/30)
<b>Fattore II NOR/Fattore V ETE</b>	100% (10/10)	100% (10/10)	100% (10/10)	100% (30/30)
<b>% concordanza totale per lotto</b>	100% (50/50)	100% (50/50)	100% (50/50)	100% (150/150)

**Tabella 7. Riepilogo dei risultati di riproducibilità per lotto - Fattore V**

ID campione di analisi	Lotto 1	Lotto 2	Lotto 3	% concordanza totale per campione
<b>NOR</b>	100% (10/10)	100% (10/10)	100% (10/10)	100% (30/30)
<b>Fattore II ETE/Fattore V NOR</b>	100% (10/10)	100% (10/10)	100% (10/10)	100% (30/30)
<b>Fattore II OMO/Fattore V NOR</b>	100% (10/10)	100% (10/10)	100% (10/10)	100% (30/30)
<b>Fattore II NOR/Fattore V OMO</b>	100% (10/10)	100% (10/10)	100% (10/10)	100% (30/30)
<b>Fattore II NOR/Fattore V ETE</b>	100% (10/10)	100% (10/10)	100% (10/10)	100% (30/30)
<b>% concordanza totale per lotto</b>	100% (50/50)	100% (50/50)	100% (50/50)	100% (150/150)

## 22 Riferimenti bibliografici

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).

## 23 Ubicazione delle sedi centrali Cepheid

### Sede centrale globale

Cepheid  
904 Caribbean Drive  
Sunnyvale, CA 94089  
Stati Uniti  
Telefono: + 1 408 541 4191  
Fax: + 1 408 541 4192  
www.cepheid.com

### Sede centrale europea

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

## 24 Assistenza Tecnica

Prima di contattare l'Assistenza Tecnica di Cepheid, raccogliere le seguenti informazioni:

- Nome del prodotto
- Numero di lotto
- Numero di serie dello strumento
- Messaggi di errore (se presenti)
- Versione del software e, se pertinente, codice riportato sull'etichetta di servizio (Service Tag) del computer

















### Informazioni di contatto

Stati Uniti  
Telefono: + 1 888 838 3222  
E-mail: techsupport@cepheid.com

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

Le informazioni di contatto di tutti gli uffici di Assistenza Tecnica di Cepheid sono disponibili nel sito:  
[www.cepheid.com/en/CustomerSupport](http://www.cepheid.com/en/CustomerSupport).

25 Tabella dei simboli

Simbolo	Significato
	Numero di catalogo
	Dispositivo medico per uso diagnostico <i>in vitro</i>
	Non riutilizzare
	Codice lotto
	Consultare le istruzioni per l'uso
	Attenzione
	Produttore
	Paese di produzione
	Contenuto sufficiente per <n> test
	Controllo
	Data di scadenza
	Marchio CE - Conformità europea
	Rappresentante autorizzato nella Comunità Europea
	Limiti di temperatura
	Rischi biologici
	Attenzione



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

**Distribuito in esclusiva da**



Cepheid Europe S.A.S.  
 Vira Solelh  
 81470 Maurens-Scopont  
 France  
 Telefono: + 33 563 825 300  
 Fax: + 33 563 825 301