

Xpert® HemosIL® FII & FV

REF GXHEMOSIL-10

For Information Only - Not a Controlled Copy

Trademark, Patents and Copyright Statements

Cepheid[®], the Cepheid logo, GeneXpert[®] and Xpert[®] are trademarks of Cepheid.

Windows[®] is a trademark of Microsoft Corporation.

HemosIL[®] 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.

Declarações relativas a marcas registadas, patentes e copyright

Cepheid[®], o logótipo da Cepheid, GeneXpert[®] e Xpert[®] são marcas comerciais da Cepheid.

Windows[®] é uma marca registada da Microsoft Corporation.

HemosIL[®] é uma marca comercial registada da Instrumentation Laboratory.

A AQUISIÇÃO DESTE PRODUTO ATRIBUI AO COMPRADOR O DIREITO NÃO TRANSFERÍVEL DE O UTILIZAR DE ACORDO COM ESTE FOLHETO INFORMATIVO. NENHUNS OUTROS DIREITOS SÃO ATRIBUÍDOS EXPRESSAMENTE, POR IMPLICAÇÃO OUPOR PRECLUSÃO. ALÉM DISSO, NÃO SE CONFEREM NENHUNS DIREITOS DE REVENDA COM A AQUISIÇÃO DESTE PRODUTO.

Copyright © Cepheid 2020. Todos os direitos reservados.



Cepheid
904 Caribbean Drive
Sunnyvale, CA 94089
USA

Phone: + 1 408 541 4191

Fax: + 1 408 541 4192



Cepheid Europe SAS
Vira Solelh
81470 Maurens-Scopont
France

Phone: + 33 563 825 300

Fax: + 33 563 825 301

Xpert® HemosIL® FII & FV

Apenas para utilização em diagnóstico *in vitro*

1 Nome proprietário

Xpert® HemosIL® FII & FV

2 Nome comum ou usual

Ensaio Xpert HemosIL Factor II & Factor V

Xpert HemosIL Factor II & Factor V

3 Utilização prevista

O ensaio Xpert® HemosIL Factor II & Factor V é um teste de genotipagem qualitativo para o diagnóstico *in vitro* destinado à deteção de alelos de Factor II e Factor V em sangue total anticoagulado com citrato de sódio ou EDTA. O teste é realizado no sistema Cepheid GeneXpert® Dx. Este teste destina-se a apresentar resultados para as mutações do Factor II (G20210A) e Factor V de Leiden (G1691A) para auxiliar no diagnóstico de pessoas com suspeita de trombofilia.

4 Resumo e explicação

A associação das mutações do Factor II (G20210A) e do Factor V Leiden (G1691A) a um aumento do risco de trombose venosa, está bem documentada.^{1, 2, 3, 4} O Factor II c.*97G>A era anteriormente designado por G20210A ou 20210G>A4 e é frequentemente referido como protrombina ou, tal como no teste Xpert Factor II & Factor V, como Factor II (G20210A). A mutação do Factor II (G20210A) refere-se à transição de G para A no nucleótido 20210 na região não traduzida 3' do gene e está associada ao aumento dos níveis plasmáticos da protrombina.

O Factor V c.1601G>A (p.Arg534Gln) era anteriormente designado por G1691A ou Arg506Gln e é frequentemente referido como Factor V Leiden ou FVL⁵, ou, tal como no teste Xpert Factor II & Factor V, como Factor V (G1691A). O Factor V Leiden (G1691A) refere-se à transição de G para A na posição do nucleótido 1691 do gene do Factor V, resultando na substituição do aminoácido arginina por glutamina na proteína do Factor V, causando resistência à clivagem pela Proteína C ativada (APC).

As mutações do Factor II (G20210A) e do Factor V Leiden (G1691A) estão presentes em 2% e 5% da população geral, respetivamente.⁶

5 Princípio do procedimento

O sistema GeneXpert Dx automatiza e integra purificação de amostras, amplificação de ácidos nucleicos, e deteção da sequência-alvo em sangue total utilizando ensaios de reação em cadeia da polimerase (PCR) em tempo real. O sistema consiste num instrumento, computador pessoal, leitor portátil de código de barras e software pré-carregado para analisar testes e visualizar os resultados. O sistema requer a utilização de cartuchos descartáveis, de utilização única, que contêm os reagentes da PCR e onde decorre esse processo. Como os cartuchos são autónomos, a contaminação cruzada entre amostras é eliminada. Para uma descrição completa do sistema, consulte o *Manual do utilizador do sistema GeneXpert Dx (GeneXpert Dx System Operator Manual)*.

O ensaio Xpert HemosIL Factor II & Factor V Assay inclui reagentes para a deteção dos alelos normais e mutantes do Factor II e do Factor V em sangue total anticoagulado com citrato de sódio ou EDTA. Cada cartucho de ensaio também contém um controlo de verificação da sonda (Probe Check Control, PCC) que verifica a reidratação dos reagentes, o enchimento do tubo de PCR no cartucho, a integridade da sonda e a estabilidade do corante.

Os iniciadores e as sondas no ensaio Xpert HemosIL Factor II & Factor V determinam o genótipo do gene Factor II (na posição 20210) e/ou do gene Factor V (na posição 1691).

6 Reagentes e instrumentos

Materiais fornecidos



O kit to ensaio Xpert HemosIL Factor II & Factor V contém reagentes suficientes para processar 10 amostras ou amostras de controlo de qualidade. O kit contém o seguinte:

Cartuchos do ensaio Xpert HemosIL Factor II & Factor V com tubos de reação integrados 10

- | | |
|--|------------------------|
| • Esfera 1 e Esfera 2 (liofilizadas) | 1 de cada por cartucho |
| • Reagente 1 | 3,0 ml por cartucho |
| • Reagente 2 (Hidrocloreto de guanidina) | 3,0 ml por cartucho |

CD

1 por kit

- Ficheiro de definição do ensaio (Assay Definition File, ADF)
- Instruções para importar o ADF para o software GeneXpert
- Instruções de utilização (folheto informativo)

Nota

As Fichas de Dados de Segurança (Safety Data Sheets, SDS) estão disponíveis em www.cepheid.com ou www.cepheidinternational.com, no separador **ASSISTÊNCIA (SUPPORT)**.

Nota

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

7 Conservação e manuseamento



- Conserve os cartuchos do ensaio Xpert Factor II & Factor V entre 2 °C e 28 °C.
- Não utilize cartuchos fora do prazo de validade.
- Não abra um cartucho até estar pronto para realizar o teste.
- Utilize o cartucho no período de 30 minutos depois de abrir a tampa.

8 Materiais necessários mas não fornecidos

- Sistema GeneXpert Dx (o número de catálogo varia consoante a configuração): Instrumento GeneXpert, computador, leitor de códigos de barras e *Manual do utilizador do sistema GeneXpert Dx (GeneXpert Dx System Operator Manual)*.

Nota

O número de catálogo do sistema GeneXpert Dx varia consoante a configuração. Contacte a Cepheid para obter a configuração desejada e o número de catálogo correspondente.

- Software GeneXpert Dx, versão 4.0 ou posterior.
- Pipeta com pontas com filtros resistentes a aerossóis para dispensar 50 µl de sangue anticoagulado com citrato de sódio ou EDTA.
- HemosIL FII & FV DNA Control, Ref. 0020003500.

9 Advertências e precauções



- Trate todas as amostras biológicas, incluindo os cartuchos usados, como sendo capazes de transmitir agentes infecciosos. Dado que é frequentemente impossível saber quais as amostras biológicas que poderão ser infecciosas, todas devem ser tratadas aplicando as precauções padrão. As linhas de orientação para manipulação de amostras estão disponíveis nos U.S. Centers for Disease Control and Prevention⁷ e no Clinical and Laboratory Standards Institute.⁸
- Siga os procedimentos de segurança da sua instituição quando trabalhar com químicos e manusear amostras biológicas.
- Use os cartuchos antes do fim do prazo de validade indicado no kit.
- Não abra a tampa do cartucho do ensaio Xpert HemosIL Factor II & Factor V, exceto quando adicionar amostra.
- Não utilize um cartucho que tenha caído ou sido agitado depois de ter adicionado a amostra.
- Não utilizar um cartucho que tenha um tubo de reação danificado (p. ex., dobrado ou partido).
- ② • Cada cartucho de uso único do ensaio Xpert HemosIL Factor II & Factor V é utilizado para processar um teste. Não reutilize cartuchos gastos.
- As amostras biológicas, os dispositivos de transferência e os cartuchos usados devem ser considerados como sendo capazes de transmitir agentes infecciosos, exigindo precauções padrão. Siga os procedimentos relativos a resíduos ambientais da sua instituição relativamente à eliminação correta de cartuchos usados e reagentes não usados. Estes materiais podem apresentar características de resíduos químicos perigosos que exigem procedimentos de eliminação nacionais ou regionais específicos. Se as regulamentações nacionais ou regionais não disponibilizarem uma indicação clara sobre a eliminação correta, as amostras biológicas e os cartuchos usados devem ser eliminados de acordo com as diretrizes relativas ao manuseamento e à eliminação de resíduos médicos da OMS (Organização Mundial da Saúde).
- 12/28 °C • Conserve o kit do ensaio Xpert HemosIL Factor II & Factor V entre 2 °C e 28 °C.
- Não abra a tampa do cartucho até estar pronto para realizar o teste.
- Se ocorrer um aumento de pressão interna no cartucho, acima do limite predeterminado pelo fabricante, a execução será abortada automaticamente e notificado um resultado de **ERRO (ERROR)**.

10 Perigos químicos^{9, 10}

- Pictograma de perigo GHS da ONU:
- Palavra-sinal: ATENÇÃO
- **Advertências de perigo GHS da ONU**
 - Pode ser nocivo por ingestão
 - Provoca irritação cutânea
 - Provoca irritação ocular grave
- **Recomendações de prudência GHS da ONU**
 - **Prevenção**
 - Lavar cuidadosamente após manuseamento.
 - Usar luvas de proteção/vestuário de proteção/proteção ocular/proteção facial
 - **Resposta**
 - SE ENTRAR EM CONTACTO COM A PELE: Lavar com sabonete e água abundantes.
 - Tratamento específico, ver informação de primeiros-socorros suplementar.
 - Em caso de irritação cutânea: Procure aconselhamento/consulte um médico
 - Retirar a roupa contaminada e lavá-la antes de a voltar a usar.
 - SE ENTRAR EM CONTACTO COM OS OLHOS: Enxaguar cuidadosamente com água durante vários minutos. Se usar lentes de contacto, retire-as, se tal lhe for possível. Continuar a enxaguar.
 - Caso a irritação ocular persista: Procure aconselhamento/consulte um médico
 - Caso sinta indisposição, contacte um CENTRO DE INFORMAÇÃO ANTIVENENOS ou um médico.

11 Colheita e transporte das amostras



- Para obter uma amostra adequada, siga fielmente as instruções desta secção.
- Apenas profissionais treinados e habilitados devem colher sangue em tubos anticoagulantes com EDTA ou citrato de sódio.
- Não centrifugue nem concentre a amostra de sangue através de remoção do plasma.
- O sangue deve ser processado num período de 24 horas quando conservado à temperatura ambiente (entre 22 °C e 28 °C). As amostras devem ser conservadas entre 2 °C e 8 °C, por períodos superiores a 24 horas. O sangue é estável até 15 dias, desde que conservado entre 2 °C e 8 °C. As amostras de sangue também podem ser conservadas a -20 °C ou -80 °C, até 3 meses. Recomenda-se a utilização de um frasco de conservação compatível com um congelador.



Nota

Coloque o sangue congelado à temperatura ambiente até descongelar totalmente. Não se recomenda mais do que um ciclo de congelação/descongelação do sangue.

- Misture a amostra invertendo 5 vezes, antes de a dispensar para dentro do cartucho.

12 Procedimento

Preparação do cartucho

Importante Inicie o teste dentro de 15 minutos após a amostra ter sido adicionada ao cartucho.

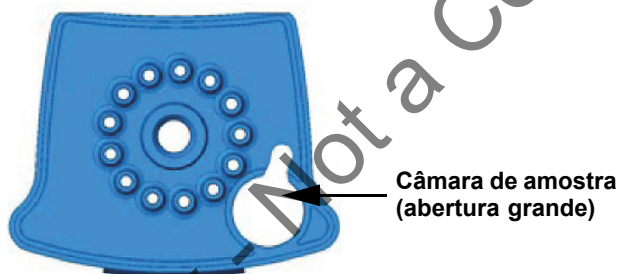


Figura 1. Cartucho do ensaio Xpert HemosIL Factor II & Factor V (vista de cima)

Para adicionar a amostra ao cartucho:

1. Remova o cartucho do kit. Não é necessário que o cartucho esteja à temperatura ambiente antes de utilizar.
2. Misture a amostra invertendo o tubo várias vezes até ficar homogénea.
3. Abra a tampa do cartucho. Utilizando uma pipeta com uma ponta resistente a aerossóis, transfira 50 µl de sangue anticoagulado com citrato de sódio ou EDTA para a parede do fundo da câmara da amostra do cartucho do ensaio Xpert HemosIL Factor II & Factor V.
4. Feche a tampa do cartucho.

13 Iniciar o teste

Importante

Antes de iniciar o teste, assegure-se de que os ficheiros de definição dos ensaios Xpert HemosIL FII, Xpert HemosIL FV e Xpert HemosIL FII & FV são importados para o software. Esta secção discrimina os passos básicos para realizar o teste. Para obter instruções detalhadas, consulte o *Manual do utilizador do sistema GeneXpert Dx (GeneXpert Dx System Operator Manual)*.

Nota

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

Esta secção lista os passos básicos para realizar o teste. Para obter instruções detalhadas, consulte o *Manual do utilizador do sistema GeneXpert Dx (GeneXpert Dx System Operator Manual)*.

1. Ligue o instrumento GeneXpert Dx e depois ligue o computador. O software GeneXpert arranca automaticamente.
2. Inicie sessão no software do sistema GeneXpert Dx utilizando o seu nome de utilizador e senha.
3. Na janela do sistema GeneXpert Dx, clique em **Criar teste (Create Test)**. Aparece a janela **Criar teste (Create Test)**.

4. Leia o código de barras do cartucho.
5. Na caixa **ID da amostra (Sample ID)**, digite a ID da amostra. Assegure-se que digita a ID correta da amostra. Em alternativa, pode ler o código de barras utilizando o leitor. A ID da amostra é associada aos resultados do teste e é visualizada na janela **Ver resultados (View Results)** e em todos os relatórios.

Nome

Seleccionar ensaio	Versão
Xpert HemosIL FV	1
Xpert HemosIL FV	1
Xpert HemosIL FII	1
Xpert HemosIL FII & FV Combo	1

Figura 2. Janela Criar teste (Create Test)

6. No menu pendente **Seleccionar ensaio (Select Assay)**, escolher o ensaio adequado a realizar.
7. Faça clique em **Iniciar teste (Start Test)**. Introduza a sua palavra-passe na caixa de diálogo que aparece.
8. Abra a porta do módulo do instrumento com a luz verde a piscar e carregue o cartucho.
9. Feche a porta. O teste começa e a luz verde para de piscar. Quando o teste termina, a luz verde desliga-se.
10. Espere até que o sistema destranque o fecho da porta antes de abrir a porta do módulo e retirar o cartucho.
11. Os cartuchos usados devem ser eliminados nos recipientes apropriados para resíduos de amostras, de acordo com as práticas padrão da sua instituição.

14 Visualização e impressão de resultados

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

1. Clique no ícone Ver resultados (View Results) para visualizar os resultados.
2. Após a conclusão do teste, clique no botão **Relatório (Report)** da janela Ver resultados (View Results) para visualizar e/ou gerar um relatório em ficheiro PDF.

15 Controlo de qualidade

CONTROL

Cada teste inclui uma verificação da sonda (PCC).

Controlo de verificação da sonda (PCC – Probe Check Control) — Antes do início da reação PCR, o sistema GeneXpert Dx mede o sinal de fluorescência das sondas para monitorizar a reidratação da esfera, o enchimento do tubo de reação, a integridade da sonda e a estabilidade do corante. A verificação da sonda é aprovada se corresponder aos critérios de aceitação atribuídos.

Controlos externos - O HemosIL FII & FV DNA Control, Ref. 0020003500, foi concebido e validado para o programa de QC externo do ensaio Xpert HemosIL FII & FV.

Como alternativa, também podem ser utilizadas amostras de sangue total normal, heterozigótico ou homozigótico para o Factor II/ Factor V (citrato de sódio ou anticoagulante EDTA) para treino, testes de avaliação da preparação e CQ externo do ensaio Xpert HemosIL Factor II & Factor V. É necessário material celular. Não utilize ADN extraído. Podem ser utilizados controlos externos de acordo com organizações de acreditação locais, nacionais e europeias, consoante aplicável.

16 Interpretação dos resultados

Os resultados são interpretados pelo sistema GeneXpert Dx através da medição de sinais fluorescentes e algoritmos integrados para identificar genótipos, sendo apresentados na janela Ver resultados (View Results):

O resultado “NORMAL” refere-se ao tipo selvagem (sem mutação detetada); o resultado “HOMOZIGÓTICO” (HOMOZYGOUS) refere-se a “mutação homozigótica” (mutação detetada em ambos os alelos); o resultado “HETEROZIGÓTICO” (HETEROZYGOUS) refere-se a “mutação heterozigótica” (mutação detetada num alelo).

Para resultados do Xpert HemosIL FII (Figura 3 à Figura 5).

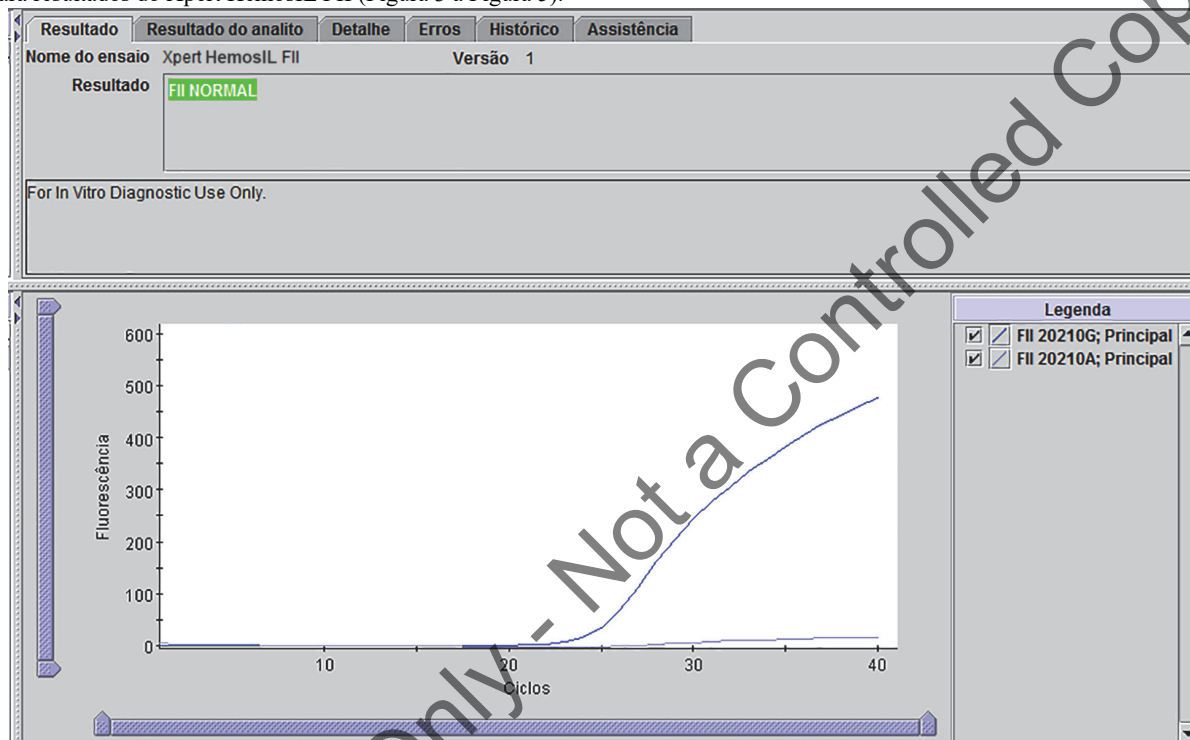


Figura 3. Sistema GeneXpert Dx - Janela Ver resultados (View Results), resultado normal do Factor II

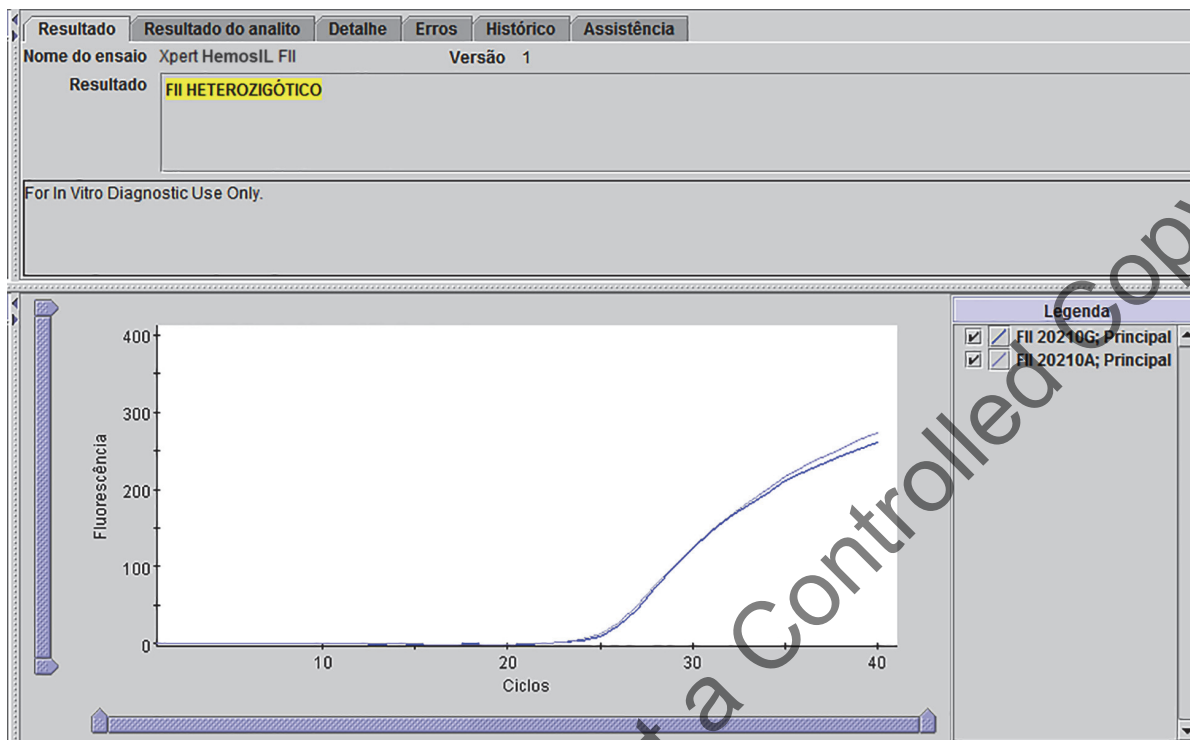


Figura 4. Sistema GeneXpert Dx - Janela Ver resultados (View Results), resultado do Factor II heterozigótico

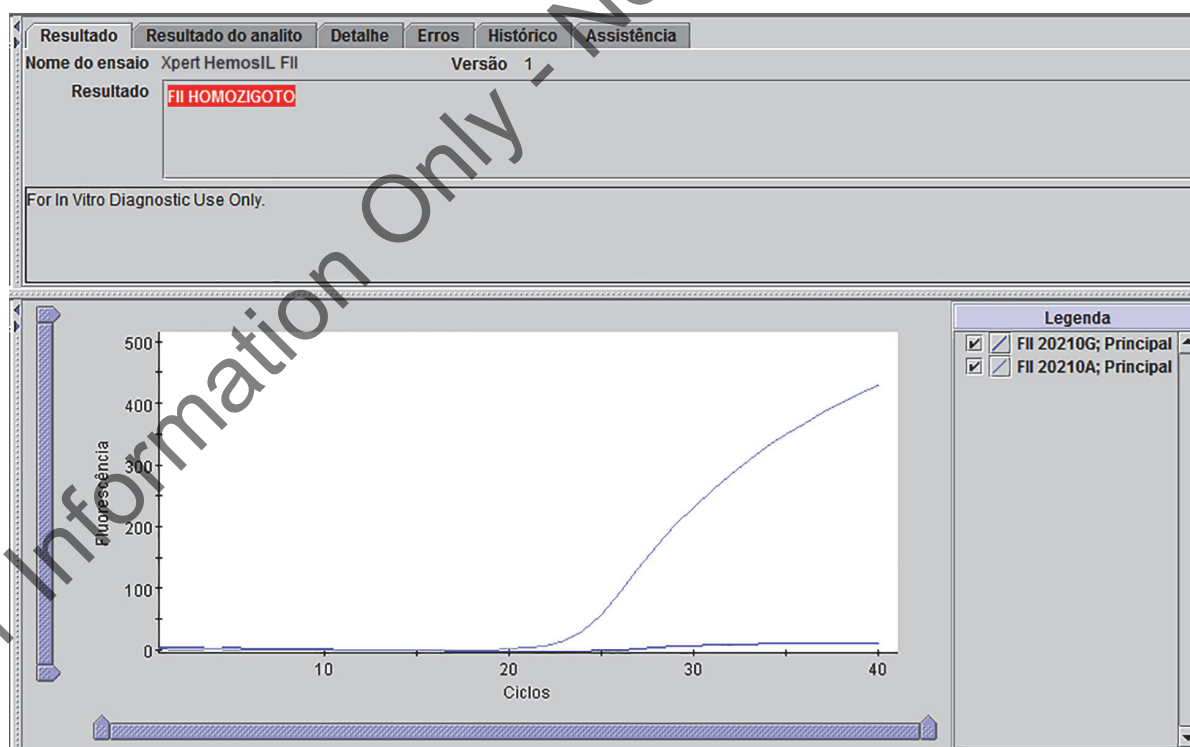


Figura 5. Sistema GeneXpert Dx - Janela Ver resultados (View Results), resultado do Factor II homozigoto

Para resultados do Xpert HemosIL FV quando é selecionado o tipo de ensaio FV no menu pendente, consulte da Figura 6 à Figura 8.

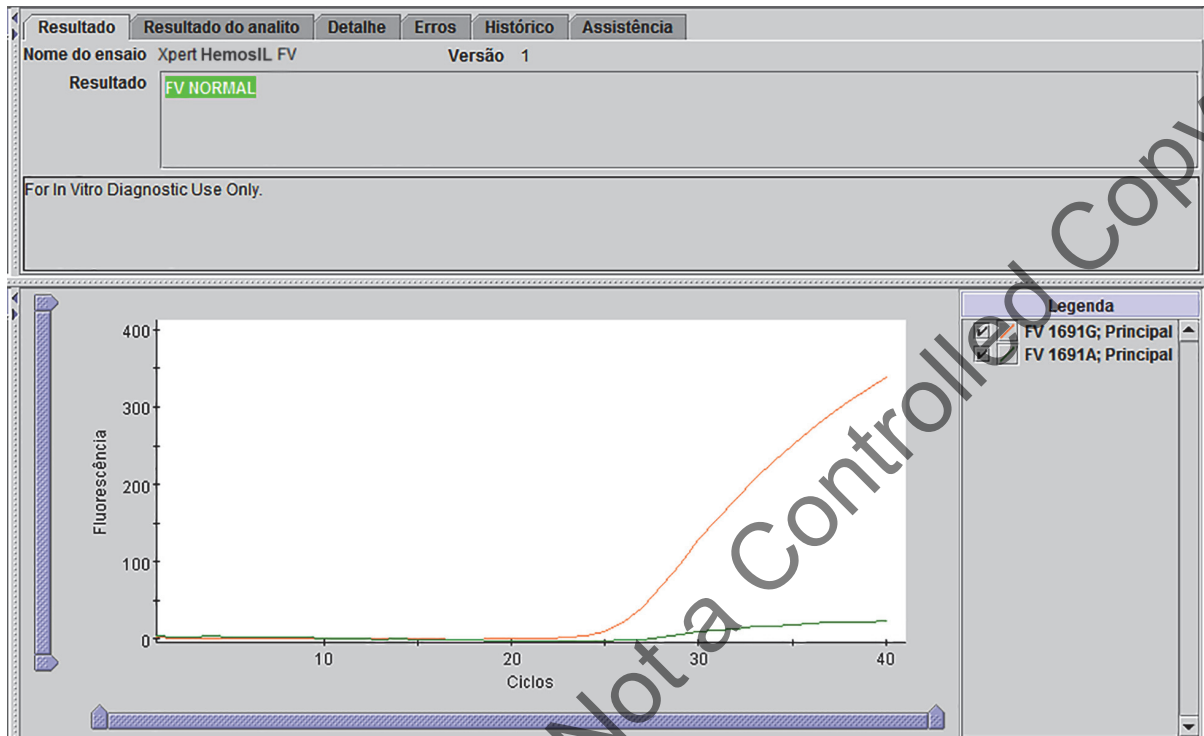


Figura 6. Sistema GeneXpert Dx - Janela Ver resultados (View Results), resultado normal do Factor V

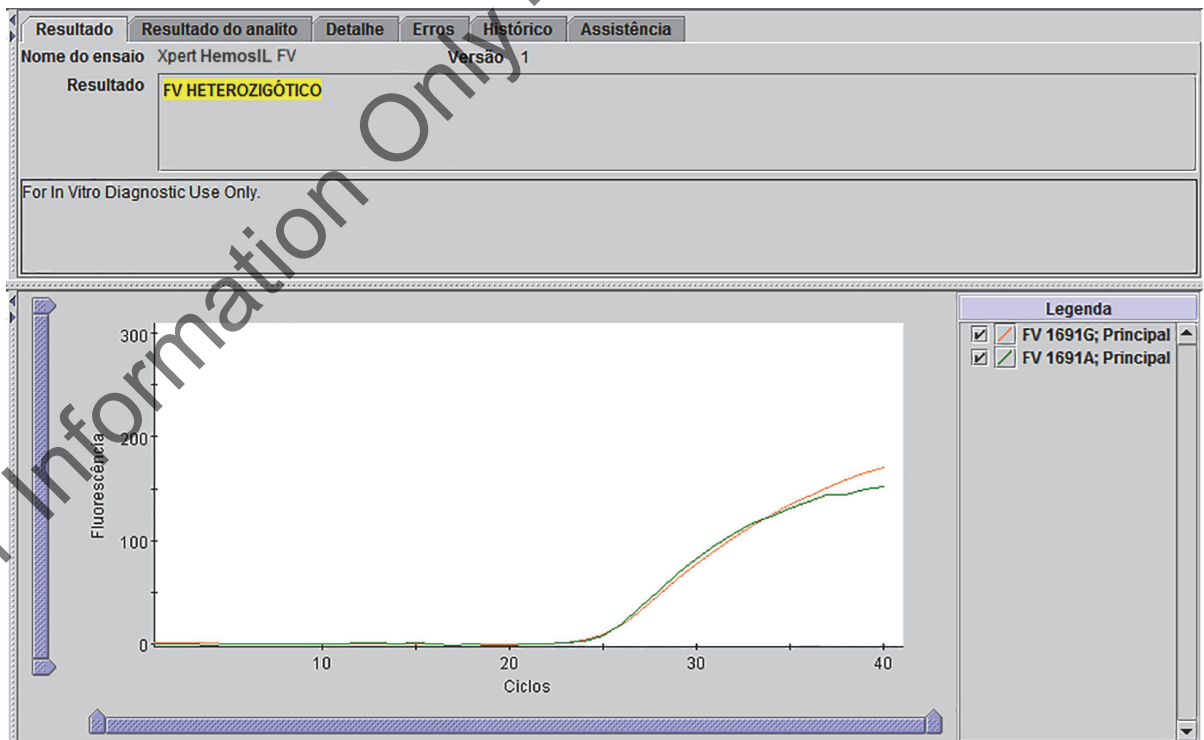


Figura 7. Sistema GeneXpert Dx - Janela Ver resultados (View Results), resultado do Factor V heterozigótico

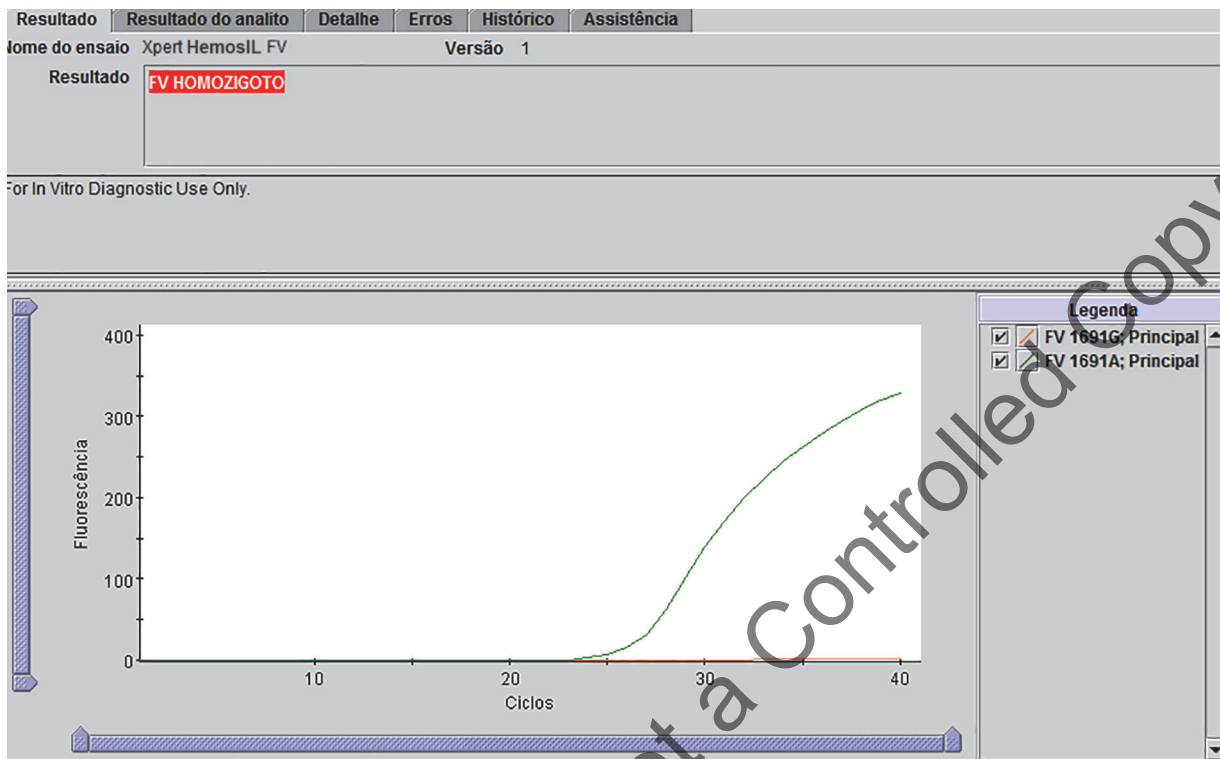


Figura 8. Sistema GeneXpert Dx - Janela Ver resultados (View Results), resultado do Factor V homozigoto

Para resultados do Xpert HemosIL FII e FV quando é selecionado o tipo de ensaio FII & FV Combo no menu pendente, consulte da Figura 9 à Figura 11.

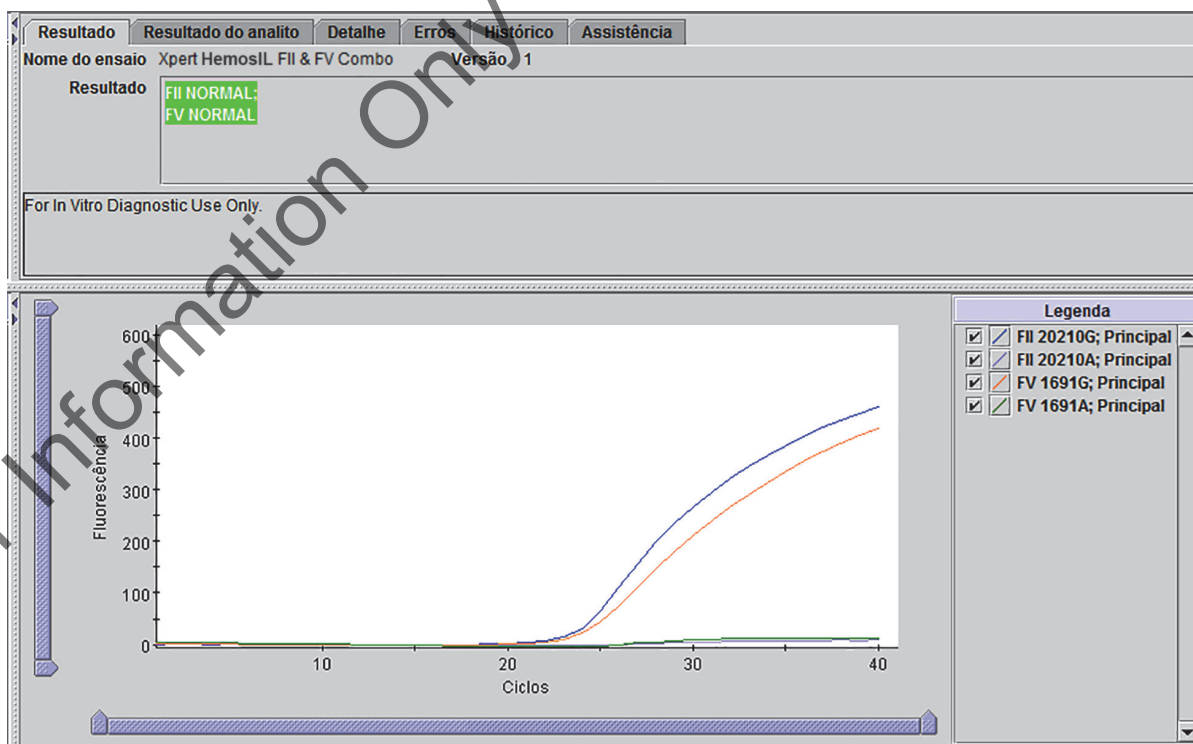


Figura 9. Sistema GeneXpert Dx - Janela Ver resultados (View Results), resultado normal do Factor II e Factor V

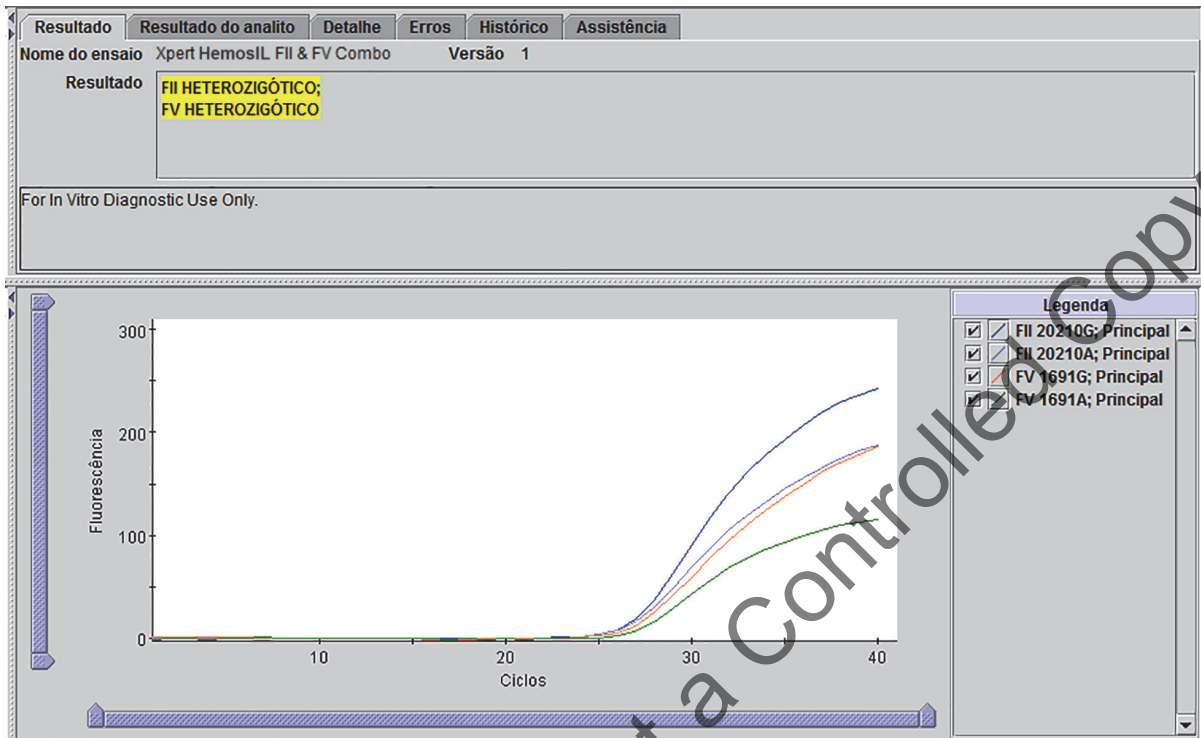


Figura 10. Sistema GeneXpert Dx - Janela Ver resultados (View Results), resultado do Factor II e Factor V heterozigótico

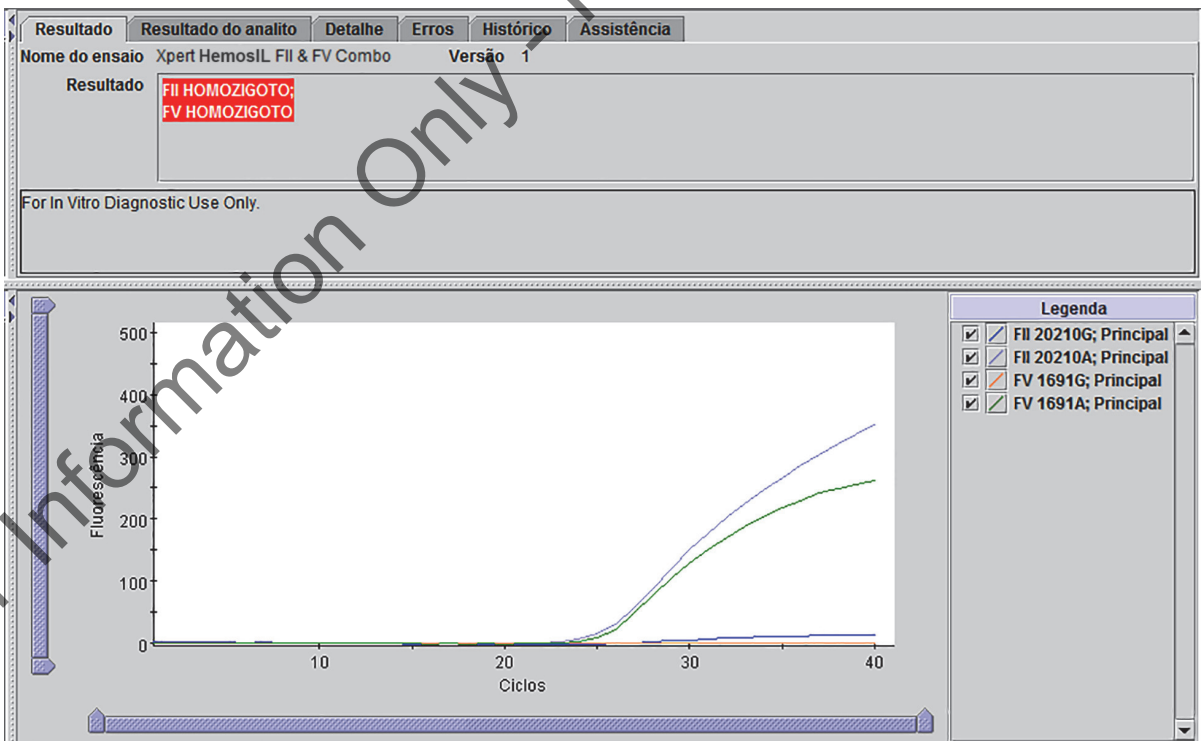


Figura 11. Sistema GeneXpert Dx - Janela Ver resultados (View Results), resultado do Factor II e Factor V homozigoto

INVÁLIDO (INVALID)

A presença ou ausência dos alelos normal e mutante do Factor II/Factor V não pode ser determinada; repita o ensaio de acordo com as instruções seguintes. A amostra não foi processada adequadamente ou a PCR foi inibida.

- **INVÁLIDO (INVALID)** — não é possível determinar a presença ou ausência de alelos normais e mutantes do Factor II/Factor V.
- Verificação da sonda — APROVADO (Probe Check — PASS); todos os resultados de verificação da sonda são aprovados.

ERRO (ERROR)

A presença ou ausência dos alelos normal e mutante do Factor II/Factor V não pode ser determinada; repita o ensaio de acordo com as instruções seguintes. O controlo de verificação da sonda falhou e o ensaio foi cancelado, possivelmente devido ao enchimento incorreto de um tubo de reação ou à deteção de um problema com a integridade da sonda. Os erros também podem ser causados quando são excedidos os limites máximos de pressão ou por falha de um componente do sistema.

- **ERRO (ERROR)**
- Verificação da sonda — FALHOU (Probe Check — FAIL)*; um ou mais dos resultados de verificação da sonda falharam. *Se a verificação da sonda passou, o erro é causado pela falha de um dos componentes do sistema.

SEM RESULTADO (NO RESULT)

A presença ou ausência dos alelos normal e mutante do Factor II/Factor V não pode ser determinada; repita o ensaio de acordo com as instruções seguintes. Não foram recolhidos dados suficientes para produzir um resultado de ensaio (por exemplo, isto pode ocorrer se o operador parou um teste que estava em curso).

- **SEM RESULTADO (NO RESULT)**
- Verificação da sonda — não aplicável (Probe Check — NA)

17 Motivos para repetir o ensaio

Repita o ensaio utilizando um cartucho novo (não reutilize o cartucho) e uma alíquota nova de sangue total anticoagulado com citrato de sódio ou EDTA:

- Um resultado **INVÁLIDO (INVALID)** indica que a amostra não foi devidamente processada ou que a PCR foi inibida.
- Um resultado **ERRO (ERROR)** indica que o controlo de verificação da sonda falhou e que o ensaio foi abortado, possivelmente devido ao enchimento incorreto de um tubo de reação ou à deteção de um problema com a integridade da sonda de reagente. Os erros também podem ser causados quando são excedidos os limites máximos de pressão ou por falha de um componente do sistema.
- **SEM RESULTADO (NO RESULT)** indica que os dados colhidos foram insuficientes. Por exemplo, o utilizador parou um teste que estava a decorrer.

18 Limitações

- O desempenho do ensaio Xpert HemosIL Factor II & Factor V foi validado utilizando apenas os procedimentos detalhados neste folheto informativo. Qualquer modificação destes procedimentos pode alterar o desempenho do teste. Os resultados do ensaio Xpert HemosIL Factor II & Factor V devem ser interpretados em conjunto com outros dados laboratoriais e clínicos de que o médico disponha.
- Mutações raras do Factor V (A1696G, G1689A e A1692C) e quaisquer SNP adicionais na região de ligação da sonda podem interferir com a deteção de alvos e causar um resultado **INVÁLIDO (INVALID)**.
- Outras mutações raras do Factor II na região de ligação da sonda podem interferir na deteção do alvo e poderá produzir um resultado **INVÁLIDO (INVALID)**, ou um resultado de mutação **HOMOZIGÓTICA (HOMOZYGOUS)** com a ocorrência simultânea da mutação do Factor II c.*97G>A (G20210A).
- O desempenho do ensaio Xpert HemosIL Factor II & Factor V não foi avaliado com amostras provenientes de pacientes pediátricos.
- Podem ocorrer resultados de teste erróneos devido a incorreções na colheita, no manuseamento ou na conservação das amostras ou devido a troca de amostras. É necessário cumprir cuidadosamente as instruções nesta embalagem para evitar resultados erróneos.

19 Substâncias que interferem

Os pacientes tratados com heparina e os pacientes submetidos a transfusão sanguínea podem ter amostras de sangue que poderão interferir com os resultados da PCR e causar resultados inválidos ou erróneos.

Os estudos de substâncias potencialmente interferentes não demonstraram qualquer inibição até 14,3 USP unidade/ml de heparina, 16 mg/dl de bilirrubina, 250 mg/dl de colesterol adicionados, ou 1932 mg/dl de triglicéridos totais (lípidos). Não foi observada qualquer inibição utilizando amostras de sangue total que tenham sido submetidas a um ciclo de congelamento/descongelamento (sangue hemolisado). A diferença entre amostras equivalentes colhidas em EDTA ou citrato de sódio não foi estatisticamente significativa.

20 Valores esperados

As mutações do Factor II (G20210A) e do Factor V Leiden (G1691A) estão presentes em 2% e 5% da população geral, respetivamente.⁶

21 Características do desempenho

21.1 Desempenho clínico

As características de desempenho do ensaio Xpert HemosIL Factor II & Factor V foram determinadas num estudo investigacional multicêntrico, em sete instituições, comparando o ensaio Xpert HemosIL Factor II & Factor V com a sequenciação bidirecional.

As amostras incluíam aqueles cujos cuidados de rotina implicavam a colheita de sangue total para testes do Factor II e/ou Factor V. As amostras foram inicialmente testadas por métodos de rotina utilizados em cada um dos laboratórios participantes e depois foram colhidas alíquotas para testes de estudo do ensaio Xpert HemosIL Factor II & Factor V no GeneXpert. O ADN em excesso foi enviado para um laboratório contratado para sequenciação bidirecional.

O desempenho do ensaio Xpert HemosIL Factor II & Factor V foi calculado relativamente aos resultados da sequenciação bidirecional.

21.2 Resultados totais

Ensaio Xpert HemosIL Factor II & Factor V

Foi testado um total de 1018 amostras para o Factor II, tanto com o ensaio Xpert HemosIL Factor II & Factor V como por sequenciação bidirecional. Foi testado um total de 1014 amostras para o Factor V, tanto com o ensaio Xpert HemosIL Factor II & Factor V como por sequenciação bidirecional. Para suplementar a dimensão da amostra homocigótica, também foram testadas seis amostras homocigóticas de ADN genómico humano para o Factor II e cinco amostras homocigóticas para o Factor V, com o ensaio Xpert HemosIL Factor II & Factor V e por sequenciação bidirecional. Os resultados são apresentados na Tabela 1.

O ensaio Xpert HemosIL Factor II & Factor V demonstrou uma exatidão total de 99,3% relativamente à sequenciação bidirecional para o Factor II e o Factor V.

Tabela 1. Desempenho do Xpert HemosIL vs. sequenciação bidirecional

Genótipo	Número testado	Número de atribuições corretas na primeira análise	Número de atribuições inválidas ^a na primeira análise	Concordância na primeira análise	Número de atribuições corretas incluindo análise de repetição	Número de atribuições inválidas ^a na análise de repetição	Concordância após análise de repetição
Factor II G20210A							
WT ^d	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%
Global	1025 ^b	982	43	95,8%	1018	7	99,3%
Factor 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%
Global	1021 ^c	979	42	95,9%	1014	7	99,3%

- a. Sem resultados discordantes. Os resultados inválidos referem-se a resultados "indeterminados"
 b. Resultados de sequenciação bidirecional para o Factor II não foram disponibilizados para 4 amostras
 c. Resultados de sequenciação bidirecional para o Factor V não foram disponibilizados para 8 amostras
 d. WT (selvagem) é normal

Especificidade analítica

Para avaliar a especificidade analítica do ensaio Xpert HemosIL Factor II & Factor V, foram sintetizadas sequências gênicas normais com polimorfismos de gene único silencioso (SNP) na região de ligação da sonda, bem como fora dessa região. A presença de SNP adicional na região de ligação da sonda, na maioria dos casos, resultou num resultado inválido. Quando se obteve um resultado válido, o genótipo era o correto.

A presença de um SNP adicional fora da região de ligação da sonda resultou na atribuição de genotipagem correta.

Sensibilidade analítica

Foram realizados estudos para determinar a quantidade mínima e máxima de input de amostras de sangue total anticoagulado com EDTA e com citrato de sódio, necessárias para obter um genótipo correto, de modo que o limite inferior do intervalo de confiança de 95% para a “atribuição correta” estimada seja superior a 95%.

Foram testadas amostras de sangue total anticoagulado com EDTA e com citrato de sódio (n=20) a 8 volumes variando de 5 µl a 250 µl.

Embora o ensaio possa tolerar volumes variáveis de 15 µl - 100 µl, 50 µl é o volume recomendado da amostra para minimizar o risco de erros associados a amostra limitada e em excesso.

Reprodutibilidade

Um painel de 5 amostras, constituído por cada um dos tipos de amostra discriminados abaixo, foi testado em duplicado por dois operadores diferentes, em 5 dias diferentes em cada um dos três locais (5 amostras x 2 vezes/dia x 2 operadores por local x 5 dias x 3 locais). Foi utilizado um lote do kit de ensaio HemosIL Factor II & Factor V em cada um dos 3 locais de testes. Foram realizados ensaios Xpert HemosIL Factor II & Factor V de acordo com o procedimento do Xpert HemosIL Factor II & Factor V. Os resultados estão resumidos da Tabela 2 à Tabela 5.

Painel do estudo:

1. uma amostra com alelos normais (de tipo selvagem) para o Factor II e Factor V;
2. uma amostra heterozigótica para mutação do Factor II (ou seja, um alelo mutante e um alelo de tipo selvagem para o gene do Factor II) e com alelos normais (de tipo selvagem) para o Factor V;
3. uma amostra homozigótica para mutação do Factor II (ou seja, dois alelos mutantes para o gene do Factor II) e com alelos normais (de tipo selvagem) para o Factor V;
4. uma amostra com alelos normais (de tipo selvagem) para o Factor II e homozigóticos para mutação do Factor V (isto é, dois alelos mutantes para o gene do Factor V);
5. uma amostra com alelos normais (de tipo selvagem) para o Factor II e heterozigóticos para mutação do Factor V (isto é, um alelo mutante e um alelo de tipo selvagem para o gene do Factor V).

É apresentado um resumo dos resultados por local na Tabela 2 e na Tabela 3. Não há diferença estatisticamente significativa nos resultados entre locais, para qualquer um dos fatores, Factor II (p=1,000) ou Factor V (p=1,000).

Tabela 2. Resumo dos resultados de reprodutibilidade por local - Factor II

ID da amostra	Local 1	Local 2	Local 3	% de concordância total por amostra
NOR	100% (20/20)	100% (20/20)	100% (20/20)	100% (60/60)
Factor II HET/Factor V NOR	100% (20/20)	100% (20/20)	100% (20/20)	100% (60/60)
Factor II HOM/Factor V NOR	100% (20/20)	100% (20/20)	100% (20/20)	100% (60/60)
Factor II NOR/Factor V HOM	100% (20/20)	100% (20/20)	100% (20/20)	100% (60/60)
Factor II NOR/Factor V HET	100% (20/20)	100% (20/20)	95,0% (19/20) ^a	98,3% (59/60) ^a
% de concordância total por local	100% (60/60)	100% (60/60)	98,3% (59/60) ^a	99,7% (299/300) ^a

a. Sem resultados discordantes. Uma amostra foi indeterminada depois de reanalisada

Tabela 3. Resumo dos resultados de reprodutibilidade por local - Factor V

ID da amostra	Local 1	Local 2	Local 3	% de concordância total por amostra
NOR	100% (20/20)	100% (20/20)	100% (20/20)	100% (60/60)
Factor II HET/Factor V NOR	100% (20/20)	100% (20/20)	100% (20/20)	100% (60/60)
Factor II HOM/Factor V NOR	100% (20/20)	100% (20/20)	100% (20/20)	100% (60/60)
Factor II NOR/Factor V HOM	100% (20/20)	100% (20/20)	100% (20/20)	100% (60/60)
Factor II NOR/Factor V HET	100% (20/20)	100% (20/20)	95,0% (19/20) ^a	98,3% (59/60) ^a
% de concordância total por local	100% (60/60)	100% (60/60)	98,3% (59/60) ^a	99,7% (299/300) ^a

a. Sem resultados discordantes. Uma amostra foi indeterminada depois de reanalisada

É apresentado um resumo dos resultados por operador na Tabela 4 e na Tabela 5. Não há diferença estatisticamente significativa nos resultados entre locais, para qualquer um dos fatores, Factor II ($p=1,000$) ou Factor V ($p=1,000$).

Tabela 4. Resumo dos resultados de reprodutibilidade por operador - Factor II

ID da amostra	Local 1		Local 2		Local 3		% de concordância total por amostra
	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)
Factor II HET/Factor V NOR	100% (10/10)	100% (10/10)	100% (10/10)	100% (10/10)	100% (10/10)	100% (10/10)	100% (60/60)
Factor II HOM/Factor V NOR	100% (10/10)	100% (10/10)	100% (10/10)	100% (10/10)	100% (10/10)	100% (10/10)	100% (60/60)
Factor II NOR/Factor V HOM	100% (10/10)	100% (10/10)	100% (10/10)	100% (10/10)	100% (10/10)	100% (10/10)	100% (60/60)
Factor II NOR/Factor V HET	100% (10/10)	100% (10/10)	100% (10/10)	100% (10/10)	100% (10/10)	90,0% (9/10) ^a	98,3% (59/60) ^a
% concordância total por operador	100% (50/50)	100% (50/50)	100% (50/50)	100% (50/50)	100% (50/50)	98,0% (49/50) ^a	99,7% (299/300) ^a

a. Sem resultados discordantes. Uma amostra foi indeterminada depois de reanalisada

Tabela 5. Resumo dos resultados de reprodutibilidade por operador - Factor V

ID da amostra	Local 1		Local 2		Local 3		% de concordância total por amostra
	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)
Factor II HET/Factor V NOR	100% (10/10)	100% (10/10)	100% (10/10)	100% (10/10)	100% (10/10)	100% (10/10)	100% (60/60)
Factor II HOM/Factor V NOR	100% (10/10)	100% (10/10)	100% (10/10)	100% (10/10)	100% (10/10)	100% (10/10)	100% (60/60)
Factor II NOR/Factor V HOM	100% (10/10)	100% (10/10)	100% (10/10)	100% (10/10)	100% (10/10)	100% (10/10)	100% (60/60)
Factor II NOR/Factor V HET	100% (10/10)	100% (10/10)	100% (10/10)	100% (10/10)	100% (10/10)	90,0% (9/10) ^a	98,3% (59/60) ^a
% concordância total por operador	100% (50/50)	100% (50/50)	100% (50/50)	100% (50/50)	100% (50/50)	98,0% (49/50) ^a	99,7% (299/300) ^a

a. Sem resultados discordantes. Uma amostra foi indeterminada depois de reanalisada

Para avaliar a reprodutibilidade inter-lote, o painel de 5 amostras, acima descrito foi analisado 2 vezes por dia ao longo de 5 dias de análises, utilizando cada um dos 3 lotes, num único local de teste (5 amostras x 2 análises por dia x 3 lotes x 5 dias). É apresentado um resumo dos resultados por lote na Tabela 6 e na Tabela 7. Não há diferença estatisticamente significativa nos resultados entre lotes, para qualquer um dos fatores, Factor II ($p=1,000$) ou Factor V ($p=1,000$).

Tabela 6. Resumo dos resultados de reprodutibilidade por lote - Factor II

ID da amostra	Lote 1	Lote 2	Lote 3	% de concordância total por amostra
NOR	100% (10/10)	100% (10/10)	100% (10/10)	100% (30/30)
Factor II HET/Factor V NOR	100% (10/10)	100% (10/10)	100% (10/10)	100% (30/30)
Factor II HOM/Factor V NOR	100% (10/10)	100% (10/10)	100% (10/10)	100% (30/30)
Factor II NOR/Factor V HOM	100% (10/10)	100% (10/10)	100% (10/10)	100% (30/30)
Factor II NOR/Factor V HET	100% (10/10)	100% (10/10)	100% (10/10)	100% (30/30)
% de concordância total por lote	100% (50/50)	100% (50/50)	100% (50/50)	100% (150/150)

Tabela 7. Resumo dos resultados de reprodutibilidade por lote - Factor V

ID da amostra	Lote 1	Lote 2	Lote 3	% de concordância total por amostra
NOR	100% (10/10)	100% (10/10)	100% (10/10)	100% (30/30)
Factor II HET/Factor V NOR	100% (10/10)	100% (10/10)	100% (10/10)	100% (30/30)
Factor II HOM/Factor V NOR	100% (10/10)	100% (10/10)	100% (10/10)	100% (30/30)
Factor II NOR/Factor V HOM	100% (10/10)	100% (10/10)	100% (10/10)	100% (30/30)
Factor II NOR/Factor V HET	100% (10/10)	100% (10/10)	100% (10/10)	100% (30/30)
% de concordância total por lote	100% (50/50)	100% (50/50)	100% (50/50)	100% (150/150)

22 Referências

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 Locais das sedes da Cepheid

Sede corporativa

Cepheid
904 Caribbean Drive
Sunnyvale, CA 94089
Estados Unidos da América
Telefone: + 1 408 541 4191
Fax: + 1 408 541 4192
www.cepheid.com

Sede europeia

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

24 Assistência Técnica

Antes de contactar a Assistência Técnica da Cepheid, reúna as seguintes informações:

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










Informações de contacto

Estados Unidos da América
Telefone: + 1 888 838 3222
E-mail: techsupport@cepheid.com

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

As informações de contacto para outros escritórios da assistência técnica da Cepheid estão disponíveis no nosso website: www.cepheid.com/en/CustomerSupport.

25 Tabela de símbolos

Símbolo	Significado
	Número de catálogo
	Dispositivo médico para diagnóstico <i>in vitro</i>
	Não reutilizar
	Código do lote
	Consulte as instruções de utilização
	Cuidado
	Fabricante
	País de fabrico
	Conteúdo suficiente para <n> testes
	Controlo
	Prazo de validade
	Marca CE – Conformidade Europeia
	Representante autorizado na Comunidade Europeia
	Limites de temperatura
	Riscos biológicos
	Atenção



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

Distribuído exclusivamente por

 Instrumentation
Laboratory



Cepheid Europe SAS
Vira Solelh
81470 Maurens-Scopont
France
Telefone: + 33 563 825 300
Fax: + 33 563 825 301