

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.

Declaraciones sobre marcas comerciales, patentes y derechos de propiedad intelectual

Cepheid[®], el logotipo de Cepheid, GeneXpert[®] y Xpert[®] son marcas comerciales de Cepheid.

Windows[®] es una marca comercial de Microsoft Corporation.

HemosIL[®] es una marca registrada de Instrumentation Laboratory.

LA COMPRA DE ESTE PRODUCTO OTORGA AL COMPRADOR EL DERECHO INTRANSFERIBLE DE UTILIZARLO SEGÚN ESTE PROSPECTO. NO SE OTORGA NINGÚN OTRO DERECHO DE FORMA EXPRESA, POR IMPLICACIÓN O POR ACCIÓN INNEGABLE. LA COMPRA DE ESTE PRODUCTO TAMPOCO OTORGA NINGÚN DERECHO DE REVENTA.

Copyright © Cepheid 2020. Reservados todos los derechos.



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

Solo para uso diagnóstico *in vitro*

1 Nombre patentado

Xpert® HemosIL® FII & FV

2 Denominación común o habitual

Ensayo Xpert HemosIL Factor II & Factor V

Xpert HemosIL Factor II & Factor V

3 Indicaciones

El ensayo Xpert HemosIL Factor II & Factor V es una prueba cualitativa de genotipificación diagnóstica *in vitro* para la detección de alelos del factor II y del factor V a partir de sangre completa anticoagulada con citrato sódico o EDTA. La prueba se realiza en el sistema Cepheid GeneXpert® Dx. Esta prueba está concebida para proporcionar resultados sobre mutaciones del factor II (G20210A) y del factor V (G1691A) Leiden a fin de facilitar el diagnóstico de personas que se sospecha que sufren trombofilia.

4 Resumen y explicación

La asociación de las mutaciones del factor II (G20210A) y del factor V Leiden (G1691A) a un mayor riesgo de trombosis venosa está muy bien documentada.^{1, 2, 3, 4} El factor II c.*97G>A se designaba previamente como G20210A o 20210G>A4, y se conoce comúnmente como protrombina, o factor II (G20210A) como en la prueba Xpert Factor II & Factor V. La mutación del factor II (G20210A) se refiere a la transición de una G por una A en el nucleótido 20210 de la región 3' no traducida del gen, y se asocia a un incremento de los niveles plasmáticos de protrombina.

El factor V c.1601G>A (p.Arg534Gln) se designaba previamente como G1691A o Arg506Gln y se conoce comúnmente como factor V Leiden o FVL⁵, o factor V (G1691A) como en la prueba Xpert Factor II & Factor V. El factor V Leiden (G1691A) se refiere a la transición de una G por una A en el nucleótido de la posición 1691 del gen del factor V, lo que provoca una sustitución del aminoácido arginina por glutamina en la proteína del factor V, lo que causa resistencia a la división por la proteína C activada (APC).

Las mutaciones del factor II (G20210A) y del factor V Leiden (G1691A) están presentes en el 2 % y el 5 %, respectivamente, de la población general.⁶

5 Principio del procedimiento

El sistema GeneXpert Dx automatiza e integra la purificación de muestras, la amplificación de ácidos nucleicos y la detección de la secuencia diana en sangre completa mediante ensayos de PCR en tiempo real. El sistema consta de un instrumento, un ordenador personal, un lector portátil de códigos de barras y software precargado para realizar las pruebas y ver los resultados. El sistema requiere el uso de cartuchos desechables de un solo uso que contengan los reactivos para la PCR y alojen el proceso de la PCR. Dado que los cartuchos son independientes, se elimina el riesgo de contaminación cruzada entre las muestras. Si desea obtener una descripción detallada del sistema, consulte el *Manual del operador del sistema GeneXpert Dx*.

El ensayo Xpert HemosIL Factor II & Factor V incluye reactivos para la detección de alelos normales y mutantes del factor II y del factor V a partir de sangre completa anticoagulada con citrato sódico o EDTA. Cada cartucho del ensayo contiene también un control de comprobación de la sonda (PCC) que verifica la rehidratación de los reactivos, el llenado del tubo de PCR en el cartucho, la integridad de las sondas y la estabilidad de los colorantes.

Los cebadores y las sondas del ensayo Xpert HemosIL Factor II & Factor V determinan el genotipo del gen del factor II (en la posición 20210) y del gen del factor V (en la posición 1691).

6 Reactivos e instrumentos

Material suministrado



El kit del ensayo Xpert HemosIL Factor II & Factor V contiene reactivos suficientes para procesar 10 muestras de pacientes o de control de calidad. El kit contiene lo siguiente:

Cartuchos del ensayo Xpert HemosIL Factor II & Factor V con tubos de reacción integrados 10

- Microesfera 1 y microesfera 2 (liofilizadas) 1 de cada por cartucho
- Reactivo 1 3,0 ml por cartucho
- Reactivo 2 (cloruro de guanidinio) 3,0 ml por cartucho

CD

1 por kit

- Archivo de definición del ensayo (Assay Definition File, ADF)
- Instrucciones para importar los ADF en el software GeneXpert
- Instrucciones de uso (prospecto)

Nota

Las fichas de datos de seguridad (Safety Data Sheets, SDS) están disponibles en la ficha de **ASISTENCIA (SUPPORT)** de www.cephheid.com o www.cephheidinternational.com.

Nota

La albúmina sérica bovina (BSA) del interior de las microesferas de este producto se obtuvo y se fabricó exclusivamente a partir de plasma bovino originario de Estados Unidos. Los animales no fueron alimentados con proteínas de rumiantes ni con otras proteínas animales; los animales superaron las pruebas ante y post mórtem. Durante el procesamiento, no hubo mezcla del material con otros materiales de origen animal.

7 Conservación y manipulación



- Conserve los cartuchos del ensayo Xpert Factor II & Factor V a una temperatura de 2-28 °C.
- No utilice cartuchos cuya fecha de caducidad haya vencido.
- No abra un cartucho hasta que no esté listo para realizar la prueba.
- Utilice el cartucho antes de que transcurran 30 minutos después de abrir la tapa.

8 Materiales requeridos pero no suministrados

- Sistema GeneXpert Dx (el número de catálogo varía según la configuración): Instrumento GeneXpert, ordenador, lector de códigos de barras y *Manual del operador del sistema GeneXpert Dx*.

Nota

El número de catálogo del sistema GeneXpert Dx varía según la configuración. Póngase en contacto con Cepheid para obtener la configuración deseada y el número de catálogo correspondiente.

- Versión 4.0 o superior del software GeneXpert Dx.
- Pipeta para dispensar 50 µl de sangre anticoagulada con citrato sódico o EDTA con puntas de filtro resistentes a los aerosoles.
- Control de ADN HemosIL FII & FV, ref. 0020003500.

9 Advertencias y precauciones



- Trate todas las muestras biológicas, incluidos los cartuchos usados, como posibles agentes transmisores de infecciones. Con frecuencia es imposible saber qué muestras podrían ser infecciosas, por lo que todas las muestras biológicas deben tratarse tomando las precauciones habituales. Las directrices para la manipulación de las muestras están disponibles en los Centros para el Control y la Prevención de Enfermedades (Centers for Disease Control and Prevention)⁷ de EE. UU. y el Instituto de Normas Clínicas y de Laboratorio (Clinical and Laboratory Standards Institute)⁸.
- Siga los procedimientos de seguridad de su centro para trabajar con productos químicos y manipular muestras biológicas.
- Utilice los cartuchos antes de la fecha de caducidad indicada en el kit.
- No abra la tapa del cartucho del ensayo Xpert HemosIL Factor II & Factor V excepto cuando vaya a añadir la muestra.
- No utilice cartuchos que se hayan caído o agitado después de haber añadido la muestra.
- No utilice cartuchos con tubos de reacción dañados (p. ej., doblados o rotos).



- Cada cartucho de un solo uso del ensayo Xpert HemosIL Factor II & Factor V se utiliza para procesar una sola prueba. No vuelva a utilizar los cartuchos usados.

- Las muestras biológicas, los dispositivos de transferencia y los cartuchos usados deben ser considerados capaces de transmitir agentes infecciosos que requieren las precauciones habituales. Siga los procedimientos de eliminación de desechos de su centro para la eliminación adecuada de los cartuchos usados y los reactivos no utilizados. Estos materiales pueden exhibir características propias de los residuos químicos peligrosos que requieren procedimientos específicos de eliminación de carácter nacional o regional. Si las normativas nacionales o regionales no proporcionan instrucciones claras en cuanto a los procedimientos de eliminación adecuados, las muestras biológicas y los cartuchos utilizados deben desecharse de conformidad con las directrices de la OMS [Organización Mundial de la Salud] en cuanto a la manipulación y eliminación de desechos médicos.



- Conserve el kit del ensayo Xpert HemosIL Factor II & Factor V a una temperatura de 2-28 °C.
- No abra la tapa del cartucho hasta el momento de realizar la prueba.
- Si la presión interna aumenta en el cartucho a más del límite preajustado del fabricante, el ciclo se interrumpirá automáticamente y se notificará un resultado de **ERROR**.

10 Peligros químicos^{9, 10}

- Pictograma de peligro del SGA de la ONU:

- Palabra de advertencia: ATENCIÓN

- **Declaraciones de peligro del SGA de la ONU**

- Puede ser nocivo en caso de ingestión.
- Provoca irritación cutánea.
- Provoca irritación ocular grave.

- **Declaraciones de precaución del SGA de la ONU**

- **Prevención**

- Lavarse concienzudamente tras la manipulación.
- Llevar guantes/prendas/gafas/máscara de protección.

- **Respuesta**

- EN CASO DE CONTACTO CON LA PIEL: Lavar con agua y jabón abundantes.
- Se necesita un tratamiento específico (ver información adicional de medidas de primeros auxilios).
- En caso de irritación cutánea: Consultar a un médico.
- Quitarse las prendas contaminadas y lavarlas antes de volver a usarlas.
- EN CASO DE CONTACTO CON LOS OJOS: Aclarar cuidadosamente con agua durante varios minutos. Quitar las lentes de contacto, si lleva y resulta fácil. Seguir aclarando.
- Si persiste la irritación ocular: Consultar a un médico.
- Llamar a un CENTRO DE INFORMACIÓN TOXICOLÓGICA o a un médico en caso de malestar.

11 Recogida y transporte de muestras



- Para recoger una muestra adecuada, siga las instrucciones de este apartado al pie de la letra.
- La extracción de sangre en tubos con los anticoagulantes EDTA o citrato sódico deberá ser llevada a cabo únicamente por profesionales formados y con la debida autorización.
- No centrifugue ni concentre las muestras de sangre mediante retirada del plasma.
- Cuando se conserve a temperatura ambiente (22-28 °C), la sangre deberá procesarse en las 24 horas posteriores a su recogida. Si se van a conservar durante más de 24 horas, las muestras deberán conservarse a una temperatura de 2-8 °C. Cuando se conserve a una temperatura de 2-8 °C, la sangre se mantendrá estable un máximo de 15 días. Las muestras de sangre también pueden conservarse a -20 °C o a -80 °C durante un máximo de 3 meses. Se recomienda utilizar frascos de conservación compatibles con congeladores.



Nota

Deje que la sangre congelada se descongele por completo a temperatura ambiente. No se recomienda congelar y descongelar la sangre más de una vez.

- Mezcle la muestra por inversión 5 veces antes de transferirla al cartucho.

12 Procedimiento

Preparación del cartucho

Importante Inicie la prueba antes de que transcurran 15 minutos después de añadir la muestra al cartucho.

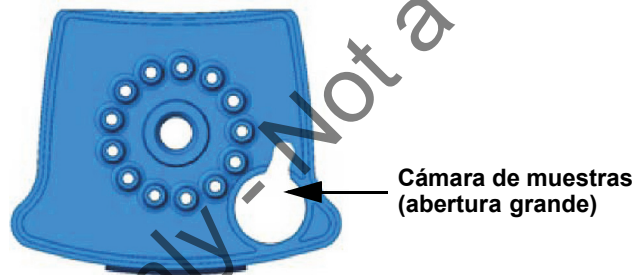


Figura 1. Cartucho del ensayo Xpert HemosIL Factor II & Factor V (vista superior)

Para añadir la muestra al cartucho:

1. Saque el cartucho del kit. No es necesario dejar que el cartucho alcance la temperatura ambiente antes de utilizarlo.
2. Mezcle la muestra invirtiendo el tubo varias veces, hasta que su contenido esté homogenizado.
3. Abra la tapa del cartucho. Utilizando una pipeta con punta resistente a los aerosoles, transfiera 50 µl de sangre anticoagulada con citrato sódico o EDTA a la pared inferior de la cámara de muestras del cartucho del ensayo Xpert HemosIL Factor II & Factor V.
4. Cierre la tapa del cartucho.

13 Inicio de la prueba

Importante

Antes de iniciar la prueba, asegúrese de que los archivos de definición de los ensayos Xpert HemosIL FII, Xpert HemosIL FV y Xpert HemosIL FII & FV se hayan importado en el software. Este apartado describe los pasos básicos para realizar la prueba. Para obtener instrucciones detalladas, consulte el *Manual del operador del sistema GeneXpert Dx*.

Nota

Los pasos que debe seguir pueden ser diferentes si el administrador del sistema cambió el flujo de trabajo predeterminado del sistema.

Este apartado describe los pasos básicos para realizar el ensayo. Para obtener instrucciones detalladas, consulte el *Manual del operador del sistema GeneXpert Dx*.

1. Encienda el instrumento GeneXpert Dx y, a continuación, encienda el ordenador. El software GeneXpert se iniciará automáticamente.
2. Inicie una sesión en el software del sistema GeneXpert Dx con su nombre de usuario y su contraseña.
3. En la ventana del sistema GeneXpert Dx, haga clic en **Crear prueba (Create Test)**. Aparecerá la ventana **Crear prueba (Create Test)**.
4. Escanee el código de barras del cartucho.
5. Introduzca la ID de la muestra en el cuadro **Id. muestra (Sample ID)**. Asegúrese de escribir correctamente la ID de la muestra. Otra opción consiste en escanear el código de barras de la muestra. La identificación de la muestra se asocia a los resultados de la prueba y se muestra en la ventana **Ver resultados (View Results)** y en todos los informes.

Figura 2. Ventana Crear prueba (Create Test)

6. En el menú desplegable **Seleccionar ensayo (Select Assay)**, seleccione el ensayo que se va a realizar.
7. Haga clic en **Iniciar prueba (Start Test)**. En el cuadro de diálogo que aparece, teclee su contraseña.
8. Abra la puerta del módulo del instrumento que tiene la luz verde intermitente y cargue el cartucho.
9. Cierre la puerta. La prueba se inicia y la luz verde deja de parpadear. Una vez finalizada la prueba, la luz se apaga.
10. Espere hasta que el sistema desbloquee la puerta del módulo antes de abrirla y retirar el cartucho.
11. Los cartuchos usados deben eliminarse en los recipientes de residuos de muestras adecuados, de acuerdo con las prácticas habituales de su centro.

14 Visualización e impresión de los resultados

Este apartado describe los pasos básicos para ver e imprimir los resultados. Para obtener instrucciones más detalladas sobre cómo visualizar e imprimir los resultados, consulte el *Manual del operador del sistema GeneXpert Dx*.

1. Haga clic en el icono **Ver resultados (View Results)** para ver los resultados.
2. Una vez finalizada la prueba, haga clic en el botón **Informe (Report)** de la ventana **Ver resultados (View Results)** para ver o generar un archivo de informe en formato PDF.

15 Control de calidad

CONTROL

Cada prueba incluye una comprobación de la sonda (PCC).

Control de comprobación de la sonda (PCC): Antes de iniciar la reacción PCR, el sistema GeneXpert Dx mide la señal de fluorescencia de las sondas para monitorizar la rehidratación de las microesferas, el llenado del tubo de reacción, la integridad de las sondas y la estabilidad de los colorantes. La comprobación de la sonda se considera superada si cumple los criterios de aceptación asignados.

Controles externos: El control de ADN HemosIL FII & FV ref. 0020003500 se ha diseñado y validado para el programa de control de calidad externo del ensayo Xpert HemosIL FII & FV.

Otra opción consiste en utilizar muestras de sangre completa con factor II o factor V normales, heterocigotos u homocigotos (anticoaguladas con citrato sódico o EDTA) para la formación, la comprobación de la competencia y el control de calidad externo del ensayo Xpert HemosIL Factor II & Factor V. Es necesario utilizar material de base celular. No utilice ADN extraído. Se pueden utilizar controles externos de acuerdo con las organizaciones de acreditación locales, estatales y nacionales, según corresponda.

16 Interpretación de los resultados

El sistema GeneXpert Dx interpreta los resultados a partir de las señales de fluorescencia medidas y de los algoritmos de cálculo incorporados para identificar los genotipos; dichos resultados se muestran en la ventana Ver resultados (View Results) siguiente:

El resultado NORMAL se refiere al tipo natural (sin mutación detectada); el resultado HOMOCIGÓTICO (HOMOZYGOUS) se refiere al «mutante homocigótico» (mutación detectada en ambos alelos); el resultado HETEROCIGÓTICO (HETEROZYGOUS) se refiere al «mutante heterocigótico» (mutación detectada en un alelo).

En el caso de los resultados de Xpert HemosIL FII (de la Figura 3 a la Figura 5).

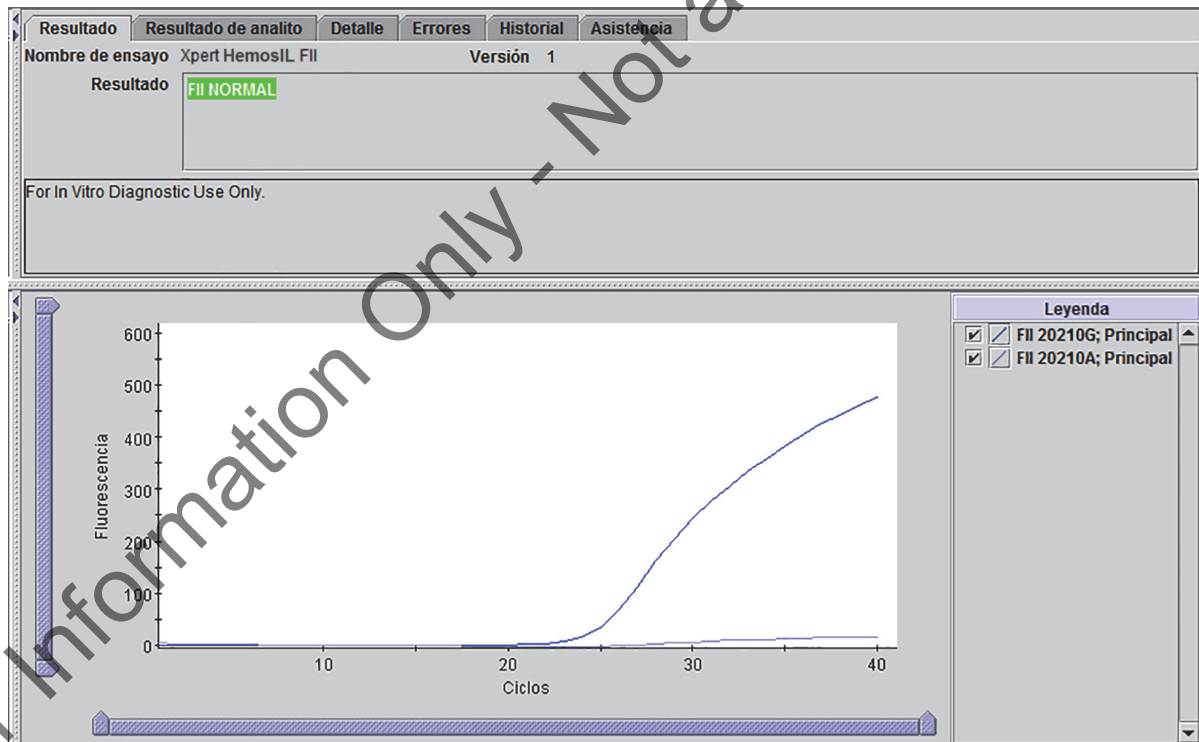


Figura 3. Sistema GeneXpert Dx: Ventana Ver resultados (View Results), resultado normal de factor II

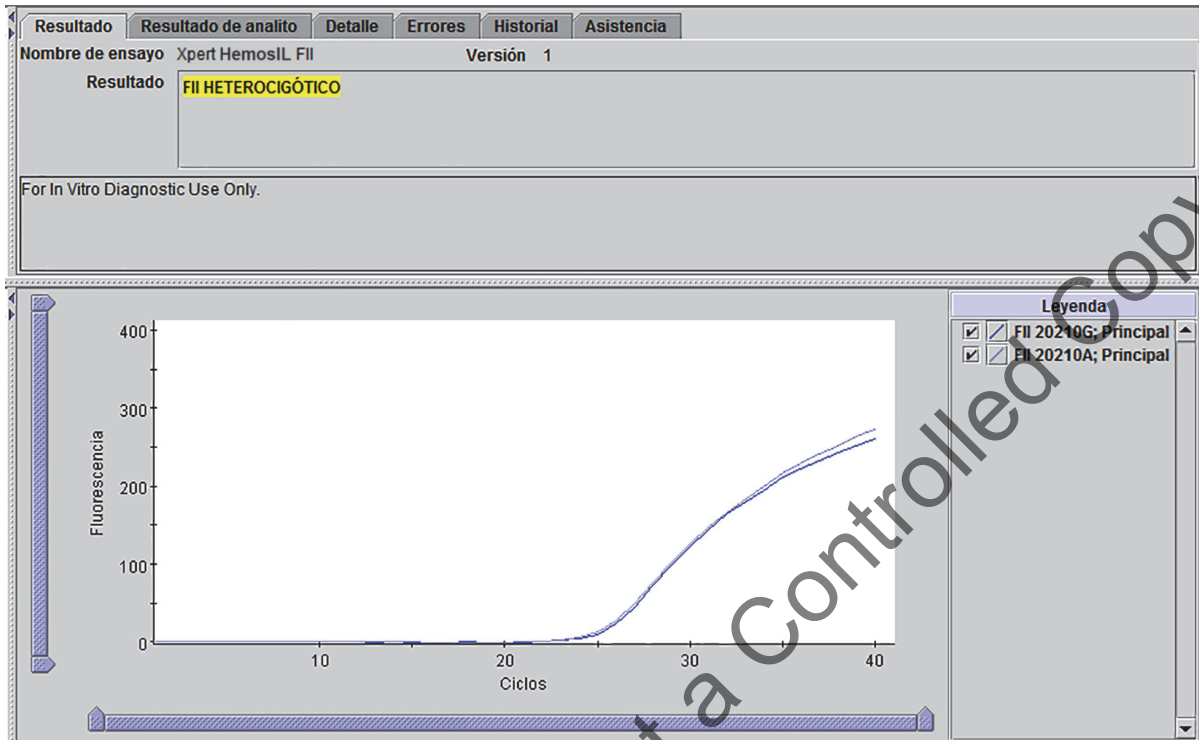


Figura 4. Sistema GeneXpert Dx: Ventana Ver resultados (View Results), resultado heterocigótico de factor II

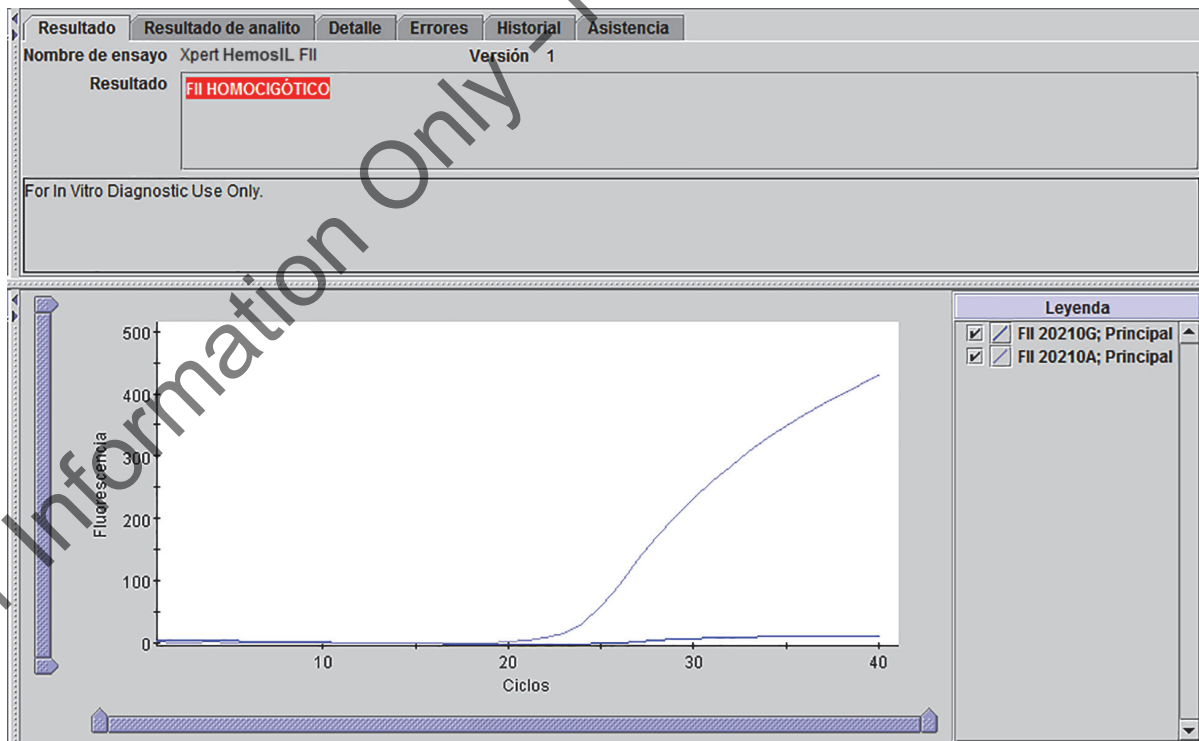


Figura 5. Sistema GeneXpert Dx: Ventana Ver resultados (View Results), resultado homocigótico de factor II

En el caso de los resultados de Xpert HemosIL FV cuando se selecciona el ensayo de tipo FV en el menú desplegable, consulte de la Figura 6 a la Figura 8.

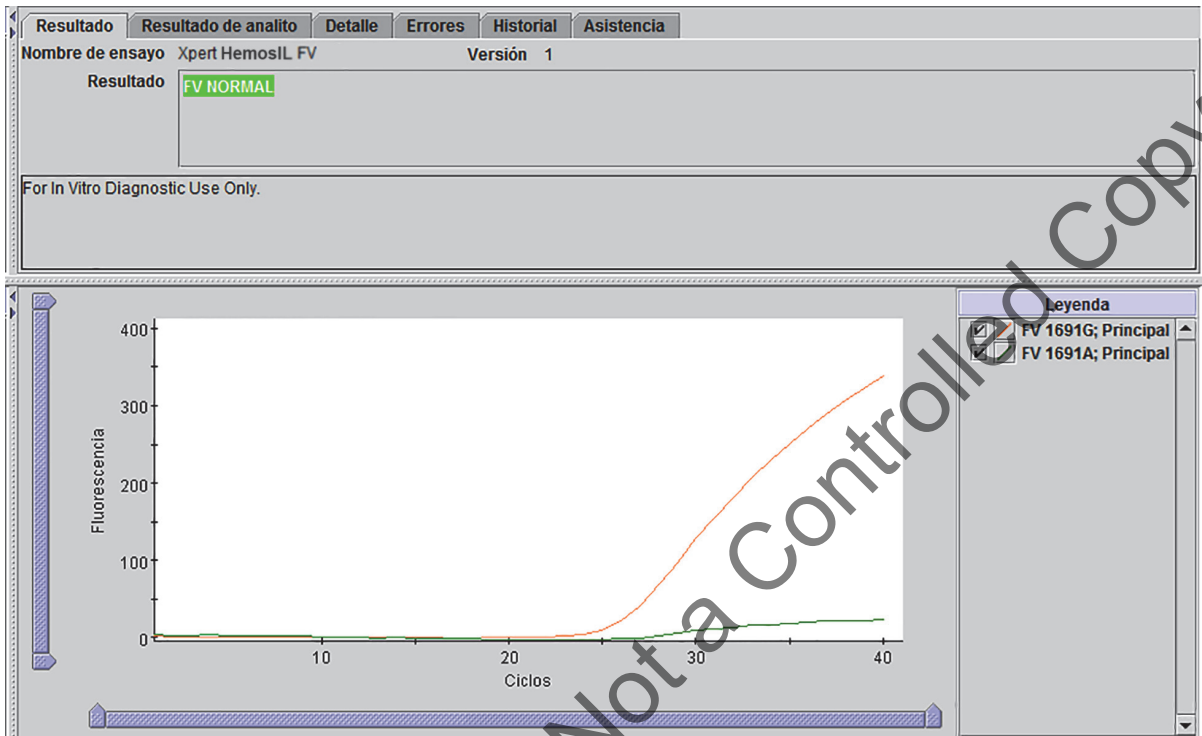


Figura 6. Sistema GeneXpert Dx: Ventana Ver resultados (View Results), resultado normal de factor V

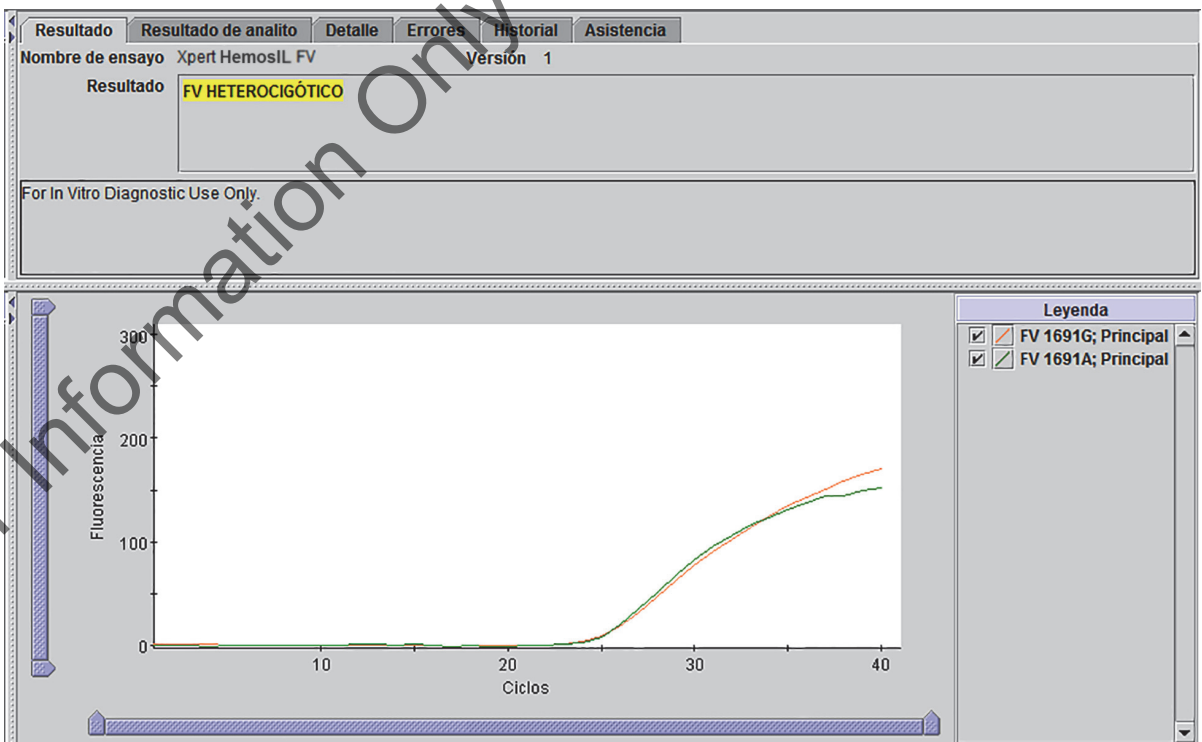


Figura 7. Sistema GeneXpert Dx: Ventana Ver resultados (View Results), resultado heterocigótico de factor V

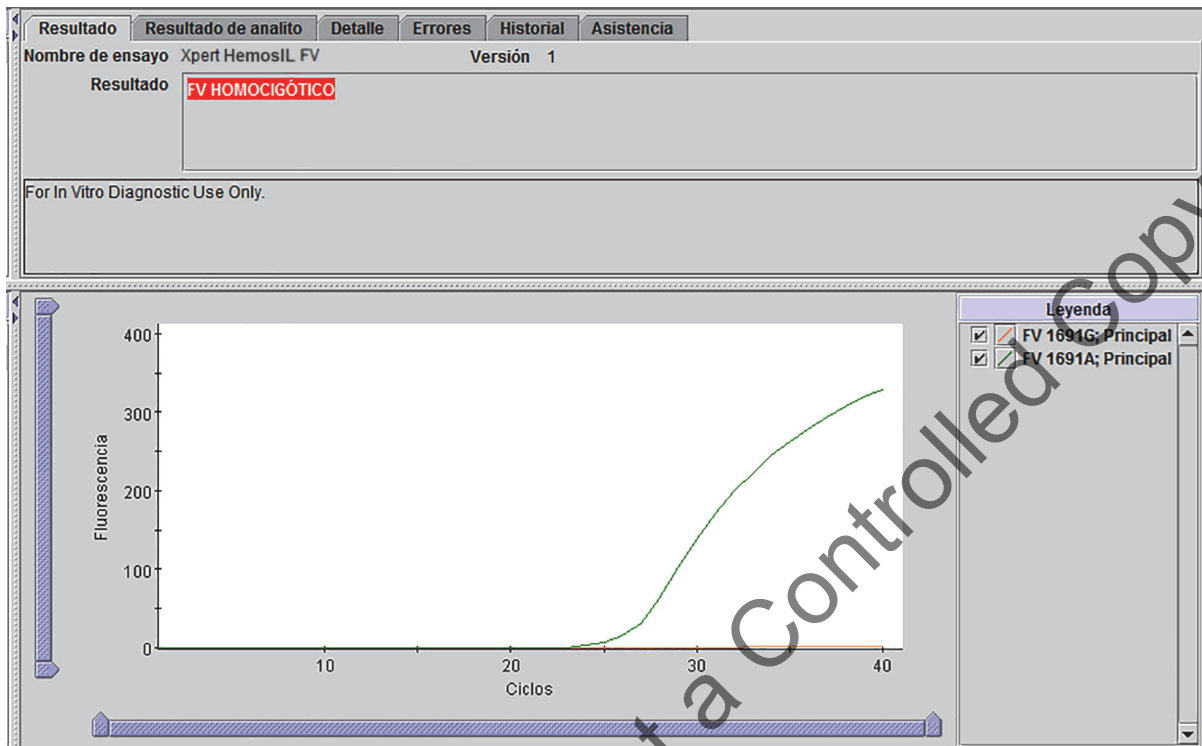


Figura 8. Sistema GeneXpert Dx: Ventana Ver resultados (View Results), resultado homocigótico de factor V

En el caso de los resultados de Xpert HemosIL FII y FV cuando se selecciona el ensayo de tipo FII & FV Combo en el menú desplegable, consulte de la Figura 9 a la Figura 11.

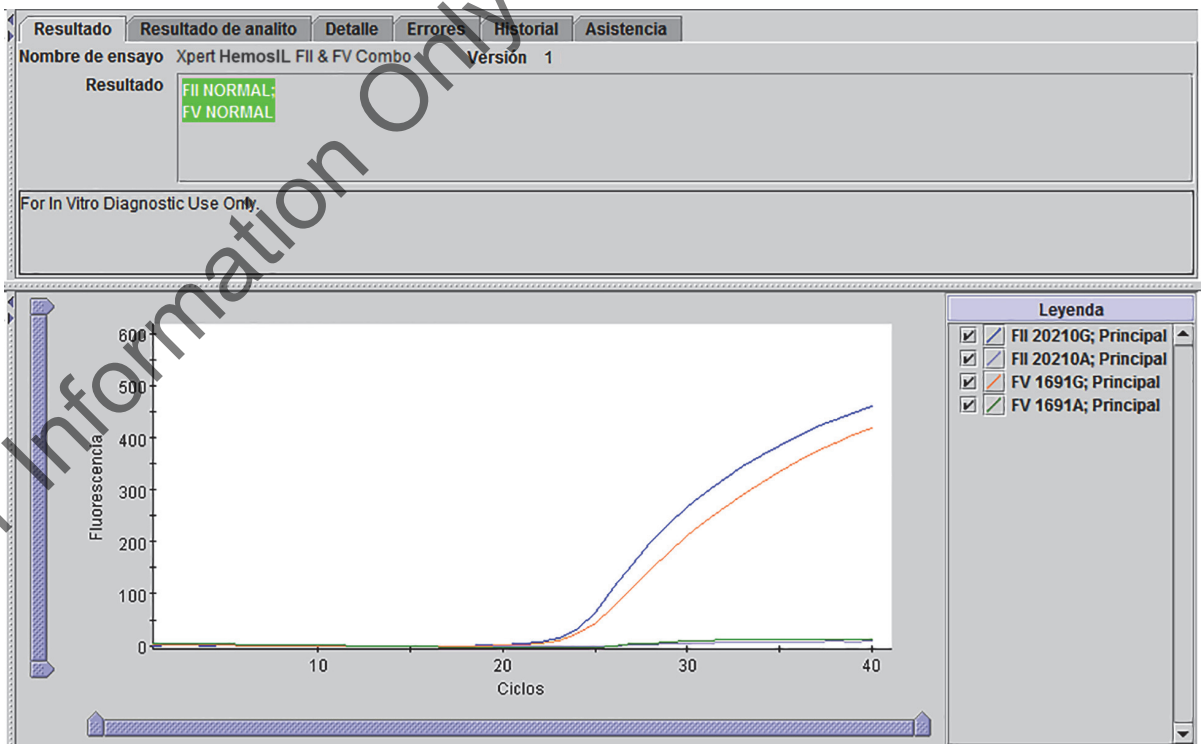


Figura 9. Sistema GeneXpert Dx: Ventana Ver resultados (View Results), resultado normal de Factor II y Factor V

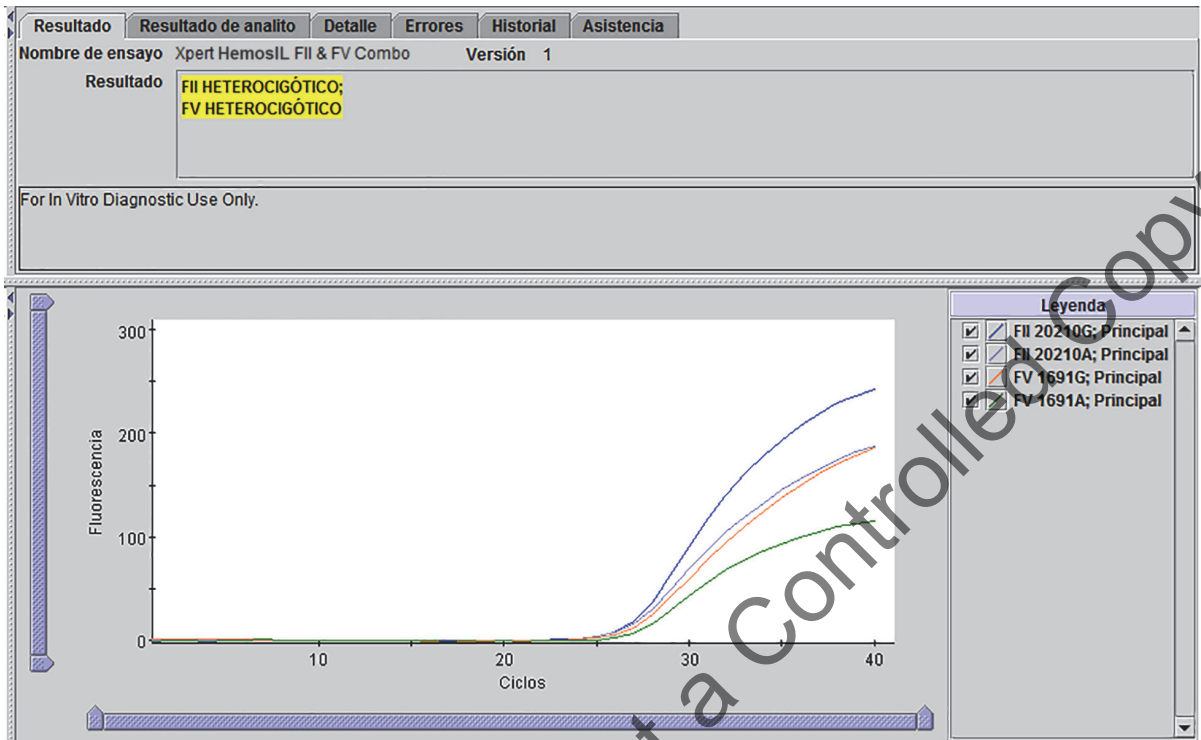


Figura 10. Sistema GeneXpert Dx: Ventana View Results (Ver resultados), resultado heterocigótico de Factor II y Factor V

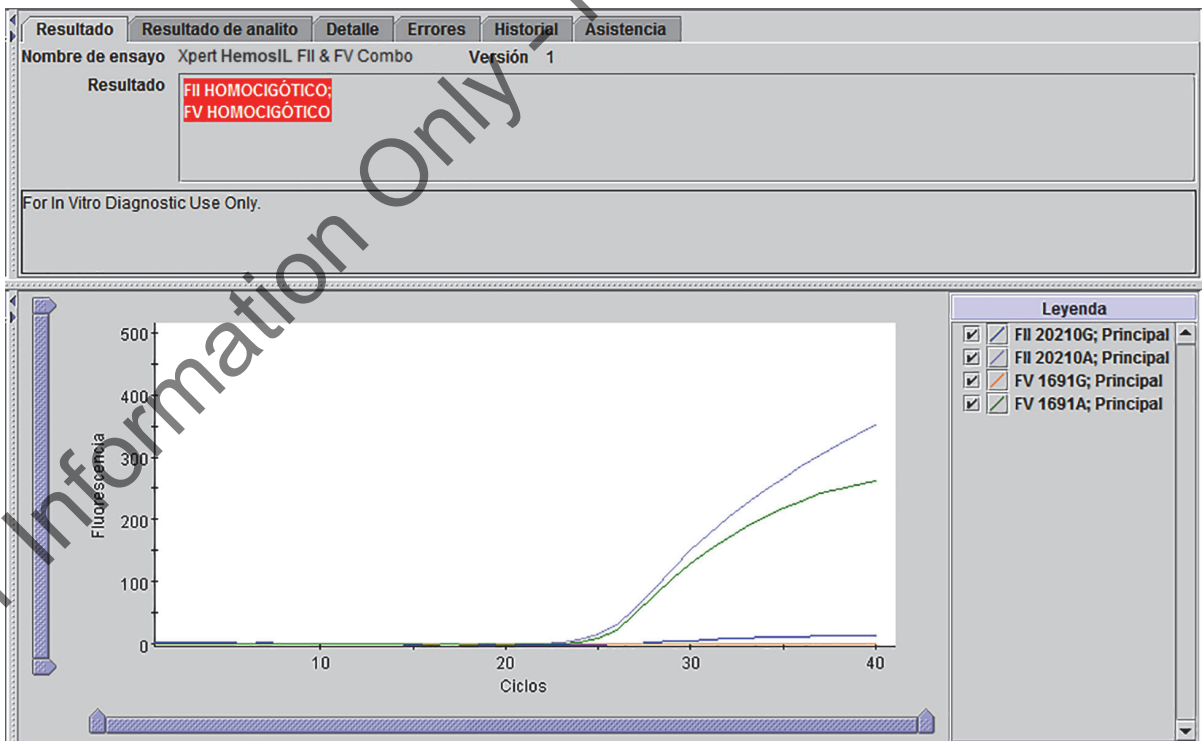


Figura 11. Sistema GeneXpert Dx: Ventana Ver resultados (View Results), resultado homocigótico de Factor II & Factor V

NO VÁLIDO (INVALID)

No puede determinarse la presencia o ausencia de alelos normales y mutantes de factor II y factor V; repita el ensayo siguiendo las instrucciones indicadas más abajo. La muestra no se procesó correctamente o la PCR se inhibió.

- **NO VÁLIDO (INVALID):** No puede determinarse la presencia o ausencia de alelos normales y mutantes de factor II y factor V.
- Comprobación de la sonda—SUPERADO (Probe Check—PASS); todos los resultados de la comprobación de la sonda superan la comprobación.

ERROR

No puede determinarse la presencia o ausencia de alelos normales y mutantes de factor II y factor V; repita el ensayo siguiendo las instrucciones indicadas más abajo. El control de comprobación de la sonda no superó la comprobación y el ensayo se interrumpió, debido posiblemente a que el tubo de reacción no se llenó correctamente o a que se detectó un problema de integridad de las sondas. También pueden producirse errores debidos a presiones superiores a los límites máximos, o a fallos de componentes del sistema.

- **ERROR**
- Comprobación de la sonda—NO SUPERADO (Probe Check—FAIL)*; uno o más de los resultados de la comprobación de la sonda no superan la comprobación.

*Si la comprobación de la sonda se superó, el error se debe a un fallo en los componentes del sistema.

SIN RESULTADO (NO RESULT)

No puede determinarse la presencia o ausencia de alelos normales y mutantes de factor II y factor V; repita el ensayo siguiendo las instrucciones indicadas más abajo. No se obtuvieron suficientes datos para producir un resultado del ensayo (por ejemplo, esto puede ocurrir si el usuario detuvo la prueba que estaba en curso).

- **SIN RESULTADO (NO RESULT)**
- Comprobación de la sonda—NC (Probe Check—NA), (no corresponde)

17 Motivos para repetir el ensayo

Repita el ensayo utilizando un nuevo cartucho (no vuelva a utilizar el cartucho) y una nueva alícuota de sangre entera anticoagulada con citrato sódico o EDTA:

- Un resultado **NO VÁLIDO (INVALID)** indica que la muestra no se procesó correctamente o que la PCR se inhibió.
- Un resultado **ERROR** indica que el control de comprobación de la sonda no superó la comprobación y el ensayo se interrumpió, debido posiblemente a que el tubo de reacción no se llenó correctamente o a que se detectó un problema de integridad de las sondas. También pueden producirse errores debidos a presiones superiores a los límites máximos, o a fallos de componentes del sistema.
- **SIN RESULTADO (NO RESULT)** indica que no se han recogido suficientes datos. Por ejemplo, si el operador detuvo una prueba en curso.

18 Limitaciones

- La eficacia diagnóstica del ensayo Xpert HemosIL Factor II & Factor V se validó únicamente mediante los procedimientos descritos en este prospecto. Las modificaciones de estos procedimientos pueden afectar a la eficacia diagnóstica de la prueba. Los resultados del ensayo Xpert HemosIL Factor II & Factor V deben interpretarse junto con otros datos de laboratorio y clínicos de los que disponga el médico.
- Mutaciones infrecuentes del factor V (A1696G, G1689A y A1692C) y cualquier otro polimorfismo de un solo nucleótido (Single Nucleotide Polymorphism, SNP) en la región de unión de las sondas pueden interferir en la detección de la diana y producir un resultado **NO VÁLIDO (INVALID)**.
- Otras mutaciones poco frecuentes del factor II en la región de unión de las sondas pueden interferir en la detección de la diana y producir un resultado **NO VÁLIDO (INVALID)**, o un resultado falso de mutante HOMOCIGÓTICO (HOMOZYGOUS) cuando tiene lugar de forma concordante con la mutación del factor II c.*97G>A (G20210A).
- No se ha evaluado la eficacia diagnóstica del ensayo Xpert HemosIL Factor II & Factor V con muestras de pacientes pediátricos.
- La prueba puede arrojar resultados erróneos si las muestras no se recogen, manipulan y conservan correctamente, o si se confunden las muestras. El estricto cumplimiento de las instrucciones incluidas en este envase es necesario para evitar resultados erróneos.

19 Sustancias interferentes

Es posible que los pacientes que se estén sometiendo a tratamiento con heparina y los pacientes de transfusiones de sangre produzcan muestras de sangre que puedan interferir en los resultados de la PCR y arrojar resultados no válidos o erróneos.

Los estudios de sustancias potencialmente interferentes no mostraron inhibición con valores de hasta 14,3 unidades USP/ml de heparina, 16 mg/dl de bilirrubina, 250 mg/dl de colesterol añadido o 1932 mg/dl de triglicéridos totales (lípidos). No se observó inhibición utilizando muestras de sangre completa que se habían sometidos a un ciclo de congelación-descongelación (sangre hemolizada). No se observó significación estadística entre muestras emparejadas extraídas en EDTA o citrato sódico.

20 Valores esperados

Las mutaciones del factor II (G20210A) y del factor V Leiden (G1691A) están presentes en el 2 % y el 5 %, respectivamente, de la población general.⁶

21 Eficacia diagnóstica

21.1 Eficacia clínica

La eficacia diagnóstica del ensayo Xpert HemosIL Factor II & Factor V se determinó en un estudio de investigación multicéntrico, realizado en siete centros, que comparó el ensayo Xpert HemosIL Factor II & Factor V con la secuenciación bidireccional.

Las muestras incluyeron muestras cuya atención médica ordinaria requería la recogida de sangre completa para la realización de pruebas de factor II o factor V. Las muestras se analizaron primeramente mediante los métodos habituales utilizados en cada laboratorio participante y, a continuación, se utilizó el ensayo Xpert HemosIL Factor II & Factor V en el GeneXpert para analizar alícuotas recogidas para las pruebas del estudio. El ADN sobrante se envió a un laboratorio contratado para la secuenciación bidireccional.

La eficacia diagnóstica del ensayo Xpert HemosIL Factor II & Factor V se calculó en relación con los resultados de la secuenciación bidireccional.

21.2 Resultados generales

Ensayo Xpert HemosIL Factor II & Factor V

Se realizaron análisis de factor II en 1018 muestras utilizando el ensayo Xpert HemosIL Factor II & Factor V y la secuenciación bidireccional. Se realizaron análisis de factor V en 1014 muestras utilizando el ensayo Xpert HemosIL Factor II & Factor V y la secuenciación bidireccional. Para suplementar el tamaño de las muestras homocigotas, se utilizó el ensayo Xpert HemosIL Factor II & Factor V y la secuenciación direccional para analizar también seis muestras de ADN genómico humano homocigotas para factor II y cinco homocigotas para factor V. Los resultados se presentan en la Tabla 1.

El ensayo Xpert HemosIL Factor II & Factor V demostró una exactitud global de un 99,3 % en relación con la secuenciación bidireccional, tanto en el factor II como en el factor V.

Tabla 1. Eficacia diagnóstica del Xpert HemosIL en relación con la secuenciación bidireccional

Genotipo	Número analizado	Número de resultados correctos en el primer ciclo	Número de resultados no válidos ^a en el primer ciclo	Acuerdo en el primer ciclo	Número de resultados correctos incluido el ciclo de repetición	Número de resultados no válidos ^a en el ciclo de repetición	Concordancia tras el ciclo de repetición
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 %
Total	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 %
Total	1021 ^c	979	42	95,9 %	1014	7	99,3 %

- a. Sin resultados discordantes. Los resultados no válidos se refieren a los resultados «indeterminados»
 b. En el caso de 4 muestras no hubo resultados de la secuenciación bidireccional para el factor II
 c. En el caso de 8 muestras no hubo resultados de la secuenciación bidireccional para el factor V
 d. WT («wildtype») es normal

Especificidad analítica

Para evaluar la especificidad analítica del ensayo Xpert HemosIL Factor II & Factor V, se sintetizaron secuencias de genes normales con polimorfismos de un solo nucleótido (Single Nucleotide Polymorphisms, SNP) inactivos tanto en la región de unión de la sonda como fuera de dicha región. En la mayoría de los casos, la presencia de los SNP adicionales en la región de unión de la sonda dio lugar a un resultado no válido. Cuando se obtuvo un resultado válido, este dio el genotipo correcto.

La presencia de un SNP adicional fuera de la región de unión de la sonda arrojó un resultado de genotipificación correcto.

Sensibilidad analítica

Se realizaron estudios para determinar, en el caso tanto de sangre completa coagulada con EDTA como de sangre completa anticoagulada con citrato sódico, las cantidades mínima y máxima de muestras de pacientes necesarias para obtener un genotipo correcto, de forma que el límite inferior del intervalo de confianza del 95 % de la fracción del «resultado correcto» estimado fuera superior al 95 %.

Las muestras de sangre anticoagulada con EDTA y citrato sódico se analizaron (n=20) a 8 volúmenes que iban de 5 µl a 250 µl.

Aunque el ensayo puede tolerar diferentes volúmenes que van de 15 µl a 100 µl, el volumen de muestra recomendado para reducir al mínimo el riesgo de errores asociados a muestras insuficientes y excesivas es de 50 µl.

Reproducibilidad

Un grupo de 5 muestras, una de cada uno de los tipos de muestra indicados más abajo, fue analizado por duplicado por dos operadores diferentes en 5 días diferentes en cada uno de tres centros (5 muestras x 2 veces/día x 2 operadores por centro x 5 días x 3 centros). Se utilizó un lote de kits del ensayo Xpert HemosIL Factor II & Factor V en cada uno de los 3 centros de análisis. Los ensayos Xpert HemosIL Factor II & Factor V se realizaron de acuerdo con el procedimiento Xpert HemosIL Factor II & Factor V. Los resultados se resumen de la Tabla 2 a la Tabla 5.

Grupo de muestras del estudio:

- Una muestra con alelos normales («wildtype») tanto para el factor II como para el factor V.
- Una muestra heterocigota para la mutación del factor II (esto es, un alelo mutante y otro «wildtype») para el gen del factor II) y con alelos normales («wildtype») para el factor V.

3. Una muestra homocigota para la mutación del factor II (esto es, dos alelos mutantes para el gen del factor II) y con alelos normales («wildtype») para el factor V.
4. Una muestra con alelos normales («wildtype») para el factor II y homocigota para la mutación del factor V (esto es, dos alelos mutantes para el gen del factor V).
5. Una muestra con alelos normales («wildtype») para el factor II y heterocigota para la mutación del factor V (esto es, un alelo mutante y uno «wildtype») para el gen del factor V).

Un resumen de los resultados por centro se muestra en la Tabla 2 y la Tabla 3. No hubo ninguna diferencia estadísticamente significativa en los resultados entre sitios ni en el caso del factor II ($p=1,000$) ni en el del factor V ($p=1,000$).

Tabla 2. Resumen de los resultados de reproducibilidad por centro: factor II

ID de la muestra	Centro 1	Centro 2	Centro 3	% de concordancia total por muestra
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 concordancia total por centro	100 % (60/60)	100 % (60/60)	98,3 % (59/60) ^a	99,7 % (299/300) ^a

a. Sin resultados discordantes. Una muestra fue indeterminada después de la repetición de la prueba.

Tabla 3. Resumen de los resultados de reproducibilidad por centro: factor V

ID de la muestra	Centro 1	Centro 2	Centro 3	% de concordancia total por muestra
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 concordancia total por centro	100 % (60/60)	100 % (60/60)	98,3 % (59/60) ^a	99,7 % (299/300) ^a

a. Sin resultados discordantes. Una muestra fue indeterminada después de la repetición de la prueba.

Un resumen de los resultados por operador se muestra en la Tabla 4 y la Tabla 5. No hubo ninguna diferencia estadísticamente significativa en los resultados entre sitios ni en el caso del factor II ($p=1,000$) ni en el del factor V ($p=1,000$).

Tabla 4. Resumen de los resultados de reproducibilidad por operador: factor II

ID de la muestra	Centro 1		Centro 2		Centro 3		% de concordancia total por muestra
	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
% de concordancia 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. Sin resultados discordantes. Una muestra fue indeterminada después de la repetición de la prueba.

Tabla 5. Resumen de los resultados de reproducibilidad por operador: factor V

ID de la muestra	Centro 1		Centro 2		Centro 3		% de concordancia total por muestra
	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
% de concordancia 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. Sin resultados discordantes. Una muestra fue indeterminada después de la repetición de la prueba.

Para evaluar la reproducibilidad entre lotes, el grupo de 5 muestras descrito anteriormente se analizó dos veces al día durante 5 días utilizando cada uno de tres lotes del ensayo en un único centro de análisis (5 muestras x 2 ciclos por día x 3 lotes x 5 días). Un resumen de los resultados por lote se muestra en la Tabla 6 y la Tabla 7. No hubo ninguna diferencia estadísticamente significativa en los resultados entre lotes ni en el caso del factor II ($p=1,000$) ni en el del factor V ($p=1,000$).

Tabla 6. Resumen de los resultados de reproducibilidad por lote: factor II

ID de la muestra	Lote 1	Lote 2	Lote 3	% de concordancia total por muestra
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 concordancia total por lote	100 % (50/50)	100 % (50/50)	100 % (50/50)	100 % (150/150)

Tabla 7. Resumen de los resultados de reproducibilidad por lote: factor V

ID de la muestra	Lote 1	Lote 2	Lote 3	% de concordancia total por muestra
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 concordancia total por lote	100 % (50/50)	100 % (50/50)	100 % (50/50)	100 % (150/150)

22 Bibliografía

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 Oficinas centrales de Cepheid

Oficinas centrales corporativas

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

Oficinas centrales europeas

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

24 Asistencia técnica

Antes de ponerse en contacto con el servicio técnico de Cepheid, reúna la información siguiente:

- Nombre del producto
- Número de lote
- Número de serie del instrumento
- Mensajes de error (si los hubiera)
- Versión de software y, si corresponde, «Service Tag» (número de servicio técnico) del ordenador.

Información de contacto

Estados Unidos
Teléfono: + 1 888 838 3222
Correo electrónico: techsupport@cepheid.com

Francia
Teléfono: + 33 563 825 319
Correo electrónico: support@cepheideurope.com

La información de contacto de todas las oficinas del servicio técnico de Cepheid está disponible en nuestro sitio web:
www.cepheid.com/en/CustomerSupport.

25 Tabla de símbolos

Símbolo	Significado
	Número de catálogo
	Producto sanitario para diagnóstico <i>in vitro</i>
	No volver a utilizar
	Código de lote
	Consultar las instrucciones de uso
	Precaución
	Fabricante
	País de fabricación
	Contiene una cantidad suficiente para <n> pruebas
	Control
	Fecha de caducidad
	Marca CE – Conformidad europea
	Representante autorizado en la Comunidad Europea
	Límites de temperatura
	Riesgos biológicos
	Atención



Cepheid
904 Caribbean Drive
Sunnyvale, CA 94089
EE. UU.
Teléfono: +1 408 541 4191
Fax: +1 408 541 4192

Distribuido en exclusiva por

 Instrumentation
Laboratory



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



For Information Only - Not a Controlled Copy