

Xpert[®] Factor II & Factor V

REF GXFIIFV-10

Istruzioni per l'uso

CE **IVD**

Dichiarazioni relative a marchi di fabbrica, brevetti e copyright

Cepheid[®], the Cepheid logo, GeneXpert[®], and Xpert[®] are trademarks of Cepheid, registered in the U.S. and other countries.

All other trademarks are the property of their respective owners.

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

© 2012–2024 Cepheid.

Cepheid[®], il logo Cepheid, GeneXpert[®] e Xpert[®] sono marchi di fabbrica di Cepheid, registrati negli USA e in altri Paesi.

Tutti gli altri marchi di fabbrica sono di proprietà dei rispettivi titolari.

L'ACQUISTO DI QUESTO PRODOTTO CONCEDE ALL'ACQUIRENTE IL DIRITTO NON TRASFERIBILE DI USARLO IN ACCORDO ALLE PRESENTI ISTRUZIONI PER L'USO. NESSUN ALTRO DIRITTO VIENE CONCESSO ESPRESSAMENTE, IMPLICITAMENTE O PER PRECLUSIONE. INOLTRE, CON L'ACQUISTO DI QUESTO PRODOTTO NON VIENE CONCESSO NESSUN DIRITTO ALLA RIVENDITA.

© 2012–2024 Cepheid.

Per una descrizione delle modifiche apportate, vedere Sezione 25 , Cronologia delle revisioni.

Xpert[®] Factor II & Factor V

Per uso diagnostico *in vitro*

1 Nome registrato

Xpert[®] FII & FV

2 Nome comune o usuale

Xpert Factor II & Factor V

3 Destinazione d'uso

Il saggio Xpert[®] FII & FV è un test diagnostico qualitativo di genotipizzazione *in vitro* per il rilevamento degli alleli del fattore II e del fattore V da sangue intero anticoagulato con sodio citrato o EDTA. Il test viene eseguito sui GeneXpert[®] Instrument Systems di Cepheid. 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 delle mutazioni del fattore II (G20210A) e del fattore V di Leiden (G1691A) a un rischio aumentato di trombosi venosa è stata ben documentata. ^{1,2,3,4} fattore II c.*97G>A era in precedenza chiamato G20210A o 20210G>A4 ed è comunemente noto con il nome di protrombina o, come nel saggio Xpert Factor II & Factor V, 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 in precedenza noto come G1691A o Arg506Gln ed è comunemente chiamato fattore V di Leiden o FVL⁵ o, come nel saggio Xpert Factor II & Factor V, 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.⁶

5 Principio della procedura

Il sistema GeneXpert consente di automatizzare e integrare la purificazione dei campioni, l'amplificazione degli acidi nucleici e il rilevamento della sequenza bersaglio in sangue intero utilizzando i saggi di PCR (Polymerase Chain Reaction, reazione a catena della polimerasi) real time. Il sistema comprende uno strumento che integra computer e lettori di codici a barre, con software già installato 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). Trattandosi di cartucce isolate ermeticamente nel contenuto, non sussiste alcun rischio di contaminazione crociata tra campioni. Per una descrizione completa del sistema, vedere il Manuale dell'operatore pertinente.

Il saggio Xpert Factor II & Factor V include reagenti per il rilevamento 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 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

6.1 Materiali in dotazione

Il kit del saggio Xpert 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 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 (idrocloreuro di guanidina)	3,0 mL per cartuccia
CD	1 per kit

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

Nota Le schede dati di sicurezza (SDS) sono disponibili nel sito www.cepheid.com o www.cepheidinternational.com sotto la scheda **SUPPORTO (SUPPORT)**.

Nota Lo stabilizzatore proteico presente nelle microsfele di questo prodotto è stato ricavato 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.
- Utilizzare la cartuccia e i reagenti entro 30 minuti dall'apertura del coperchio della cartuccia.

8 Materiali necessari ma non forniti

- GeneXpert Dx System o GeneXpert Infinity System (il numero di catalogo varia a seconda della configurazione): Strumento GeneXpert, computer, lettore di codici a barre e manuale dell'operatore.


Nota Il numero di catalogo di GeneXpert Instrument System varia a seconda della configurazione. Rivolgersi a Cepheid per la configurazione desiderata e il corrispondente numero di catalogo.

- GeneXpert Dx System: software versione 4.0 o successiva. Software GeneXpert Infinity Xpertise versione 6.6 o successiva.
- Pipetta per la dispensazione di 50 µL di sangue anticoagulato con sodio citrato o EDTA, dotata di puntali con filtro resistente agli aerosol.

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 nel rispetto delle precauzioni standard. Le linee guida per il trattamento dei campioni di analisi sono disponibili presso l'ente statunitense per la prevenzione e il controllo delle malattie (U.S. Centers for Disease Control and Prevention)⁷ e l'istituto per gli standard clinici e di laboratorio (Clinical and Laboratory Standards Institute)⁸.
- Durante il trattamento di sostanze chimiche e la manipolazione di campioni biologici, rispettare le procedure di sicurezza previste dalla struttura sanitaria di riferimento.
- Usare le cartucce entro la data di scadenza riportata sul kit.
- Non aprire il coperchio della cartuccia del saggio Xpert Factor II & Factor V se non 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).
- Ogni cartuccia monouso del saggio Xpert 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 nel rispetto delle precauzioni standard. Attenersi alle procedure di smaltimento dei rifiuti ambientali in uso presso la struttura di riferimento per il corretto smaltimento delle cartucce usate e dei reagenti non utilizzati. Questi materiali potrebbero essere considerati rifiuti chimici pericolosi per il cui smaltimento occorre 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.
- Conservare il kit del saggio Xpert 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 fabbricante, la sessione si interrompe automaticamente e viene segnalato un risultato di **ERRORE (ERROR)**.

10 Pericoli chimici^{9,10}

- Pittogramma di pericolo UN GHS: 
- Parola: ATTENZIONE
- **Indicazioni di pericolo UN GHS**
 - Può essere nocivo se ingerito
 - Provoca irritazione cutanea.
 - Provoca grave irritazione oculare.
- **Fraasi 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 Prelievo, trasporto e conservazione 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

12.1 Preparazione della cartuccia

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

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

1. Estrarre la cartuccia dal kit. Non è necessario portare la cartuccia a temperatura ambiente prima dell'uso.
2. Miscelare il campione, capovolgendo la provetta per almeno 5 volte fino ad avere ottenuto 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 dell'apertura del campione della cartuccia per il saggio Xpert Factor II & Factor V. Vedere la Figura 1.
4. Chiudere il coperchio della cartuccia.



Figura 1. Cartuccia Xpert Factor II & Factor V

13 Esecuzione del test

- Per GeneXpert Dx System, vedere Sezione 13.1 .
- Per GeneXpert Infinity System, vedere Sezione 13.2 .

13.1 GeneXpert Dx System

13.1.1 Selezione del test

Nel menu a discesa **Selezione saggio (Select Assay)**, selezionare il saggio da eseguire.

	Name	Version
Select Assay	Xpert FV	1
Select Module	Xpert FII & FV Combo	1
Reagent Lot ID	Xpert FV	1
	Xpert FII	1

Figura 2. Finestra Crea analisi (Create Test)

13.1.2 Avvio del test

Prima di iniziare il test, assicurarsi che:

- Importante**
- il sistema stia eseguendo la versione corretta del software GeneXpert Dx mostrata nella sezione Materiali necessari ma non forniti;
 - nel software sia stato importato il file di definizione del saggio corretto.

In questa sezione sono elencati i passaggi principali di esecuzione del test. Per le istruzioni dettagliate, vedere la *GeneXpert Dx System Operator Manual*.

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

1. Accendere GeneXpert Dx System, poi il computer ed effettuare l'accesso. Il software GeneXpert si avvia automaticamente. Se ciò non dovesse accadere, fare doppio clic sull'icona del collegamento del software GeneXpert Dx sul desktop di Windows®.
2. Effettuare l'accesso con il proprio nome utente e la password.
3. Nella finestra del **sistema GeneXpert**, fare clic su **Crea analisi (Create Test)**. Viene visualizzata la finestra **Crea analisi (Create Test)**. Si aprirà la finestra di dialogo **Esegui scansione del codice a barre dell'ID paziente (Scan Patient ID Barcode)**.
4. Eseguire la scansione dell'ID paziente (Patient ID) o digitarlo. Se l'ID paziente (Patient ID) viene digitato, assicurarsi che sia digitato correttamente.

L'ID paziente (Patient ID) è associato ai risultati del test e viene visualizzato nella finestra **Visualizza risultati (View Results)** e in tutti i rapporti. Verrà visualizzata la finestra di dialogo **Esegui scansione del codice a barre dell'ID campione (Scan Sample ID Barcode)**.

5. Inserire l'ID campione (Sample ID) tramite scansione o manualmente. Se l'ID campione (Sample ID) viene digitato, assicurarsi che sia digitato correttamente.
L'ID del campione sarà associato ai risultati del test e viene mostrato nella finestra **Visualizza risultati (View Results)** e su tutti i rapporti. Si aprirà la finestra di dialogo **Esegui scansione del codice a barre della cartuccia (Scan Cartridge Barcode)**.
6. Eseguire la scansione del codice a barre della cartuccia. Utilizzando le informazioni contenute nel codice a barre, il software compila automaticamente le caselle relative ai seguenti campi: Selezione saggio (Select Assay), ID lotto reagente (Reagent Lot ID), N/S cartuccia (Cartridge S/N) e Data di scadenza (Expiration Date).

Nota

Se non si riesce a eseguire la scansione del codice a barre della cartuccia, ripetere il test con una cartuccia nuova.
Se è stata eseguita la scansione del codice a barre della cartuccia nel software e il file di definizione del saggio non è disponibile, apparirà una schermata in cui si indica che il file di definizione del saggio non è stato caricato nel sistema.
Se compare tale schermata, contattare il Supporto Tecnico di Cepheid.

7. Fare clic su **Avvia analisi (Start Test)**. Se richiesto, 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 dei rifiuti di campioni di analisi attenendosi alla prassi standard del proprio presidio.

13.1.3 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.

13.2 GeneXpert Infinity System**13.2.1 Avvio del test**

Prima di iniziare il test, assicurarsi che:

Importante

- il sistema stia eseguendo la versione corretta del software Xpertise mostrata nella sezione Materiali necessari ma non forniti;
- nel software sia stato importato il file di definizione del saggio corretto.

In questa sezione sono elencati i passaggi principali di esecuzione del test. Per le istruzioni dettagliate, vedere la *GeneXpert Infinity System Operator Manual*.

Nota

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

1. Accendere lo strumento. Il software Xpertise si avvia automaticamente. Se non si avvia, fare doppio clic sull'icona del collegamento del software Xpertise sul desktop di Windows®.
2. Effettuare l'accesso nel computer, quindi al software del sistema GeneXpert Xpertise con il proprio nome utente e la password.
3. Nell'area di lavoro della **Pagina iniziale Xpertise Software (Xpertise Software Home)**, fare clic su **Ordini (Orders)** e nell'area di lavoro **Ordini (Orders)** fare clic su **Ordina test (Order Test)**.
Viene visualizzata l'area di lavoro **Ordina test - ID paziente (Order Test – Patient ID)**.
4. Eseguire la scansione dell'ID paziente (Patient ID) o digitarlo. Se l'ID paziente (Patient ID) viene digitato, assicurarsi che sia digitato correttamente.

L'ID paziente (Patient ID) è associato ai risultati del test e viene visualizzato nella finestra **Visualizza risultati (View Results)** e in tutti i rapporti.

5. Immettere le ulteriori informazioni richieste dalla propria organizzazione e fare clic sul pulsante **CONTINUA (CONTINUE)**.
Viene visualizzata l'area di lavoro **Ordina test - ID campione (Order Test - Sample ID)**.
6. Inserire l'ID campione (Sample ID) tramite scansione o manualmente. Se l'ID campione (Sample ID) viene digitato, assicurarsi che sia digitato correttamente.
L'ID del campione sarà associato ai risultati del test e viene mostrato nella finestra **Visualizza risultati (View Results)** e su tutti i rapporti.
7. Fare clic sul pulsante **CONTINUA (CONTINUE)**.
Viene visualizzata l'area di lavoro **Ordina test - Saggio (Order Test - Assay)**.
8. Eseguire la scansione del codice a barre della cartuccia. Utilizzando le informazioni contenute nel codice a barre, il software compila automaticamente le caselle relative ai seguenti campi: Seleziona saggio (Select Assay), ID lotto reagente (Reagent Lot ID), N/S cartuccia (Cartridge S/N) e Data di scadenza (Expiration Date).

Nota

Se non si riesce a eseguire la scansione del codice a barre della cartuccia, ripetere il test con una cartuccia nuova. Se è stata eseguita la scansione del codice a barre della cartuccia nel software e il file di definizione del saggio non è disponibile, apparirà una schermata in cui si indica che il file di definizione del saggio non è stato caricato nel sistema. Se compare tale schermata, contattare il Supporto Tecnico di Cepheid.

Dopo la scansione della cartuccia, viene visualizzata l'area di lavoro **Ordina test - Informazioni sul test (Order Test - Test Information)**.

9. Verificare che le informazioni siano corrette e fare clic su **Invia (Submit)**. Se richiesto, digitare la propria password nella finestra di dialogo visualizzata.
10. Posizionare la cartuccia sul nastro trasportatore.
La cartuccia viene caricata automaticamente, il test viene eseguito e la cartuccia usata viene collocata nel contenitore dei rifiuti.

13.2.2 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 *GeneXpert Infinity System Operator Manual*.

1. Nell'area di lavoro della **pagina iniziale del software Xpertise**, premere l'icona **RISULTATI (RESULTS)**. Viene visualizzato il menu Risultati (Results).
2. Nel menu Risultati (Results), premere il pulsante **VISUALIZZA RISULTATI (VIEW RESULTS)**. L'area di lavoro **Visualizza risultati (View Results)** mostra i risultati del test.
3. Fare clic sul pulsante **RAPPORTO (REPORT)** per visualizzare e/o generare un file del rapporto in formato PDF.

14 Controllo qualità

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 di strumentazione GeneXpert 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 - In alternativa, per fini di addestramento, di test di rendimento e di controllo di qualità esterno del saggio Xpert Factor II & Factor V, è possibile utilizzare campioni di sangue intero fattore II/fattore V normali, eterozigoti od omozigoti (in sodio citrato o EDTA come anticoagulante) o controlli disponibili in commercio che siano stati convalidati con il sistema. È necessario utilizzare materiale cellulare; non usare DNA estratto. Possono essere usati controlli esterni, in conformità delle disposizioni degli organismi di accreditamento locali, regionali e nazionali pertinenti.

15 Interpretazione dei risultati

GeneXpert Instrument Systems 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 il tipo wildtype (nessuna mutazione rilevata); il risultato “OMOZIGOTE” (HOMOZYGOUS) indica “mutante omozigote” (mutazione rilevata in entrambi gli alleli); il risultato “ETEROZIGOTE” (HETERZYGOUS) indica “mutante eterozigote” (mutazione rilevata in un allele).

Per i risultati Xpert FII quando dall’elenco a discesa è selezionato il tipo di saggio FII, vedere dalla Figura 3 alla Figura 5.

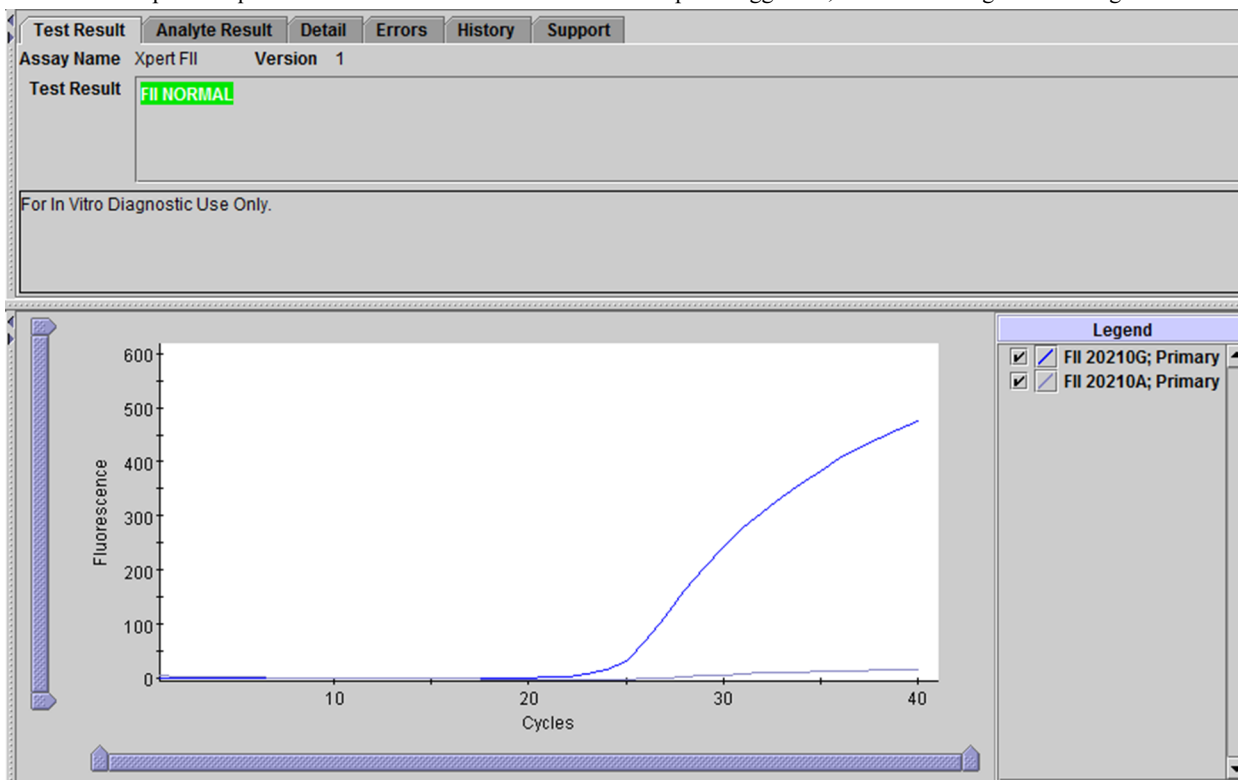


Figura 3. GeneXpert Instrument Systems - Finestra di visualizzazione dei risultati: risultato per fattore II normale

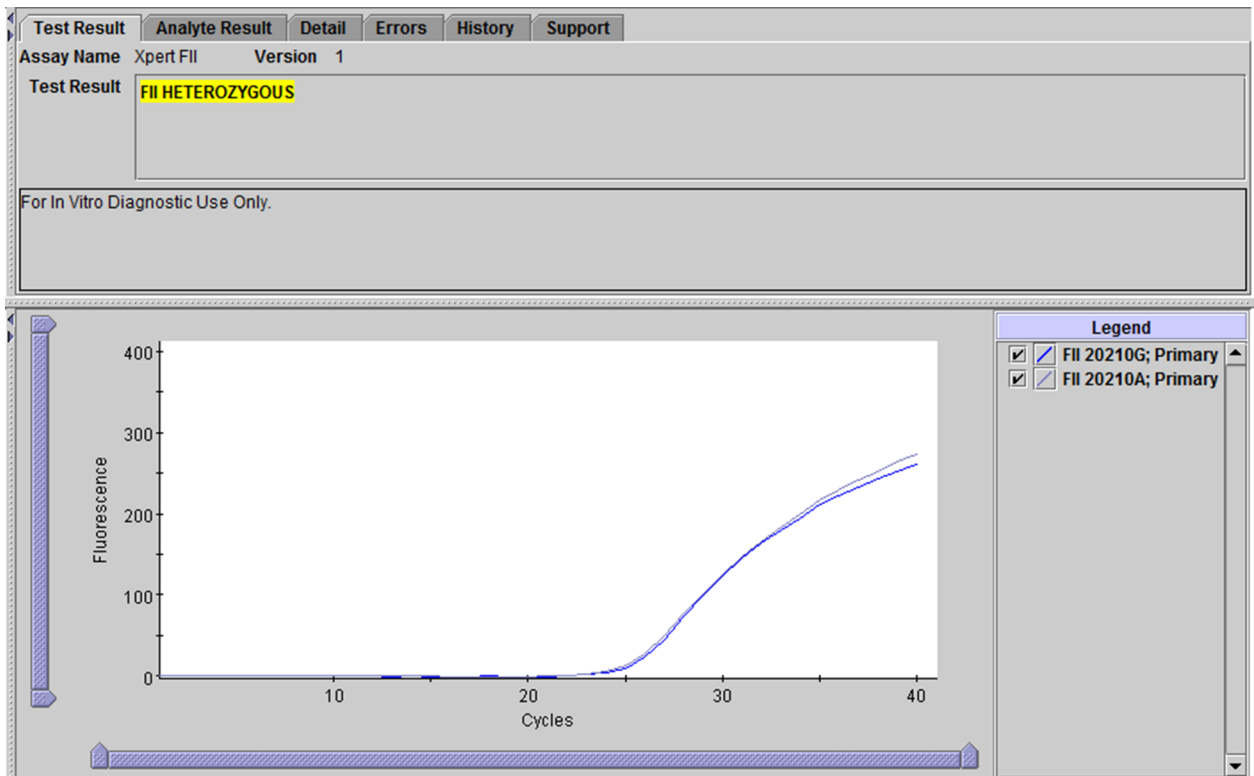


Figura 4. GeneXpert Instrument Systems - Finestra di visualizzazione dei risultati: risultato per fattore II eterozigote

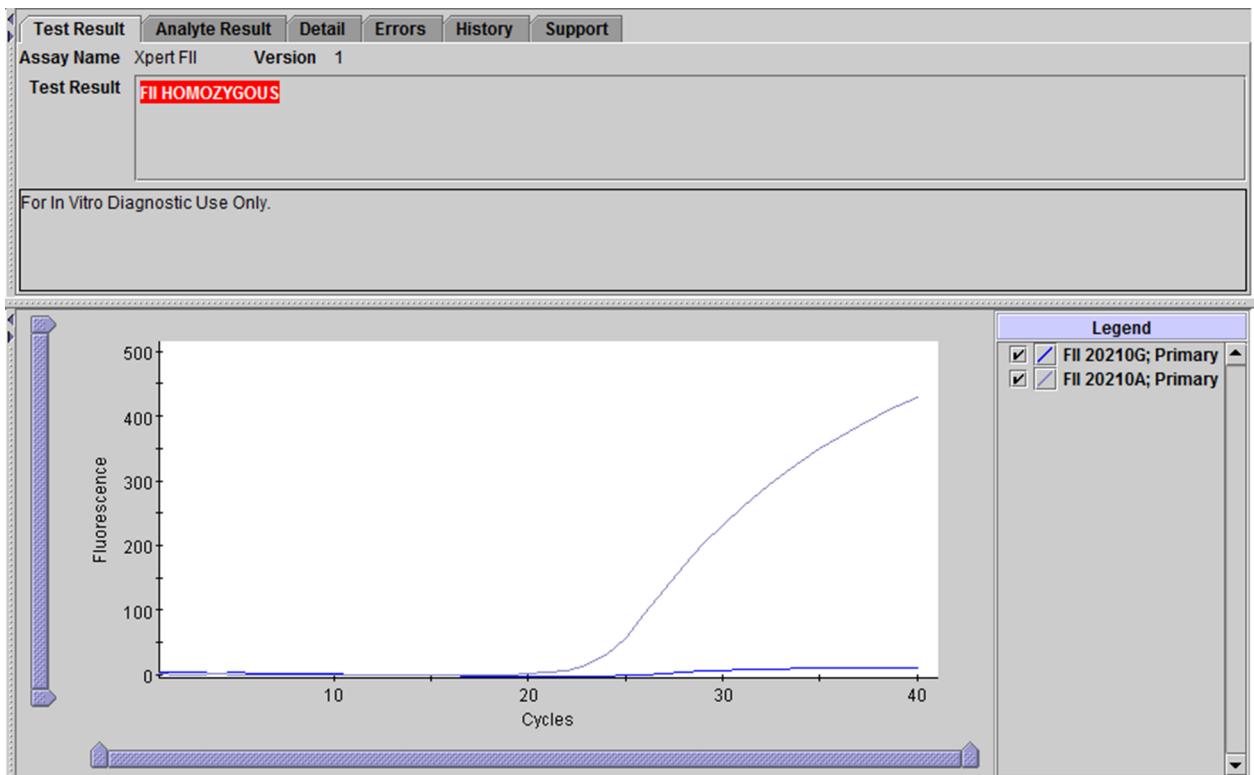


Figura 5. GeneXpert Instrument Systems - Finestra di visualizzazione dei risultati: risultato per fattore II omozigote

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

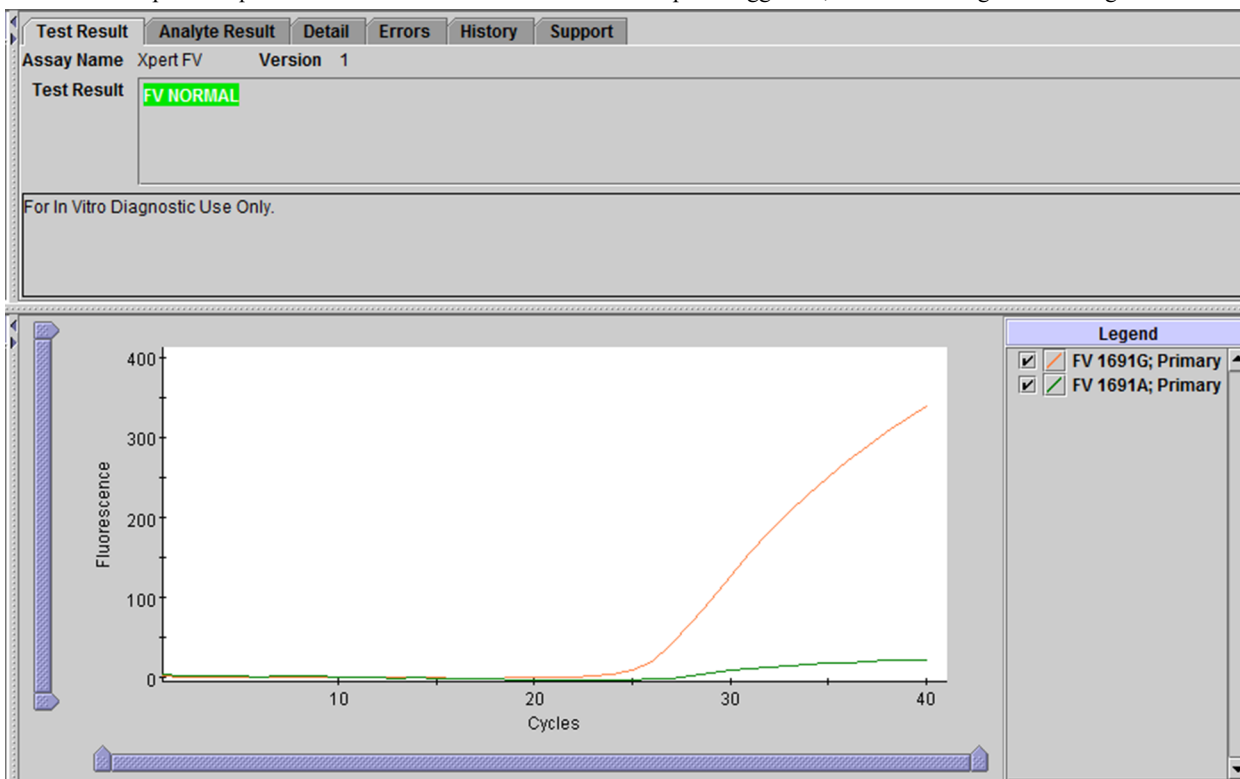


Figura 6. GeneXpert Instrument Systems - Finestra di visualizzazione dei risultati: risultato per fattore V normale

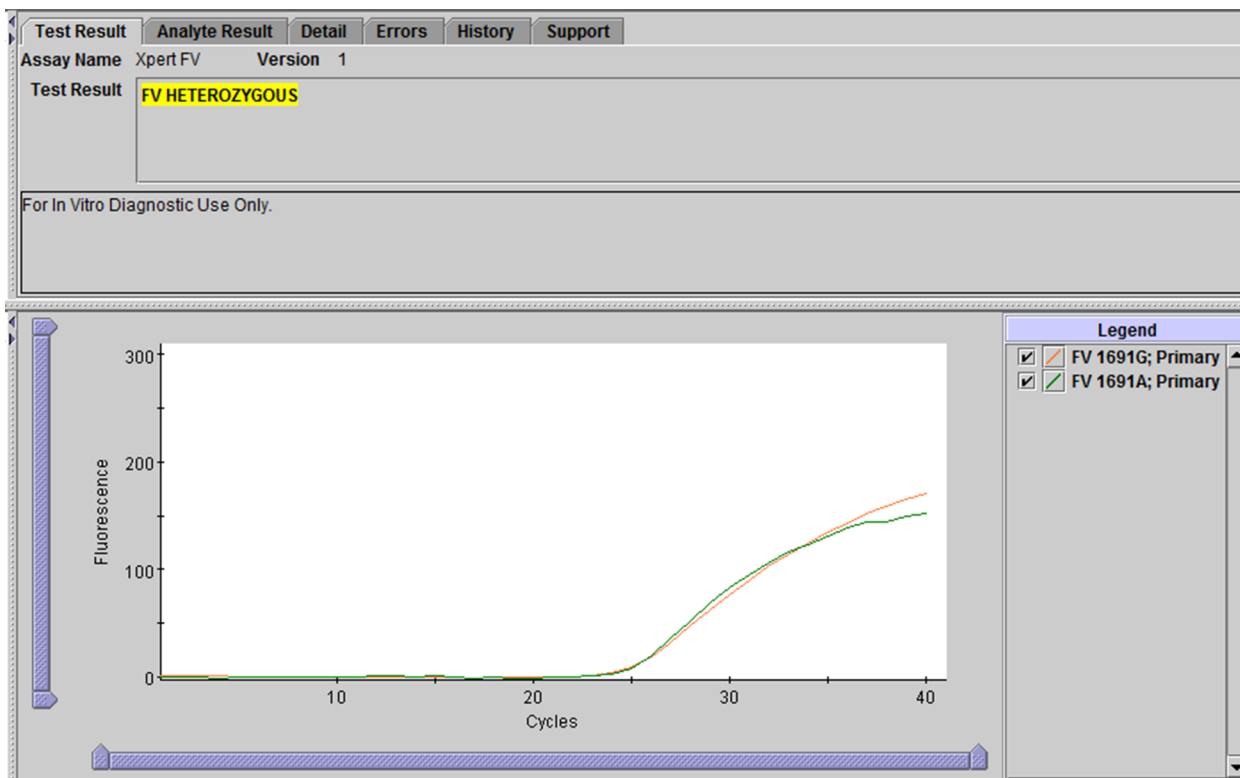


Figura 7. GeneXpert Instrument Systems - Finestra di visualizzazione dei risultati: risultato per fattore V eterozigote

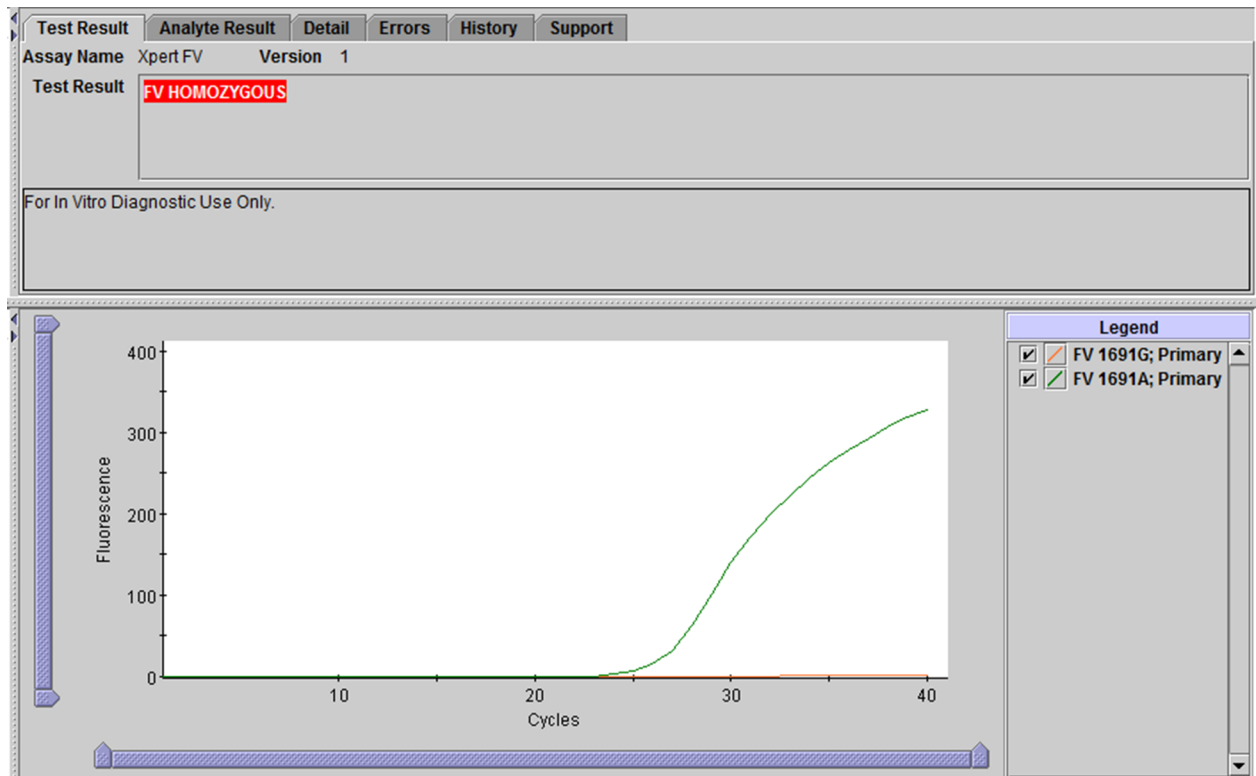


Figura 8. GeneXpert Instrument Systems - Finestra di visualizzazione dei risultati: risultato per fattore V omozigote

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

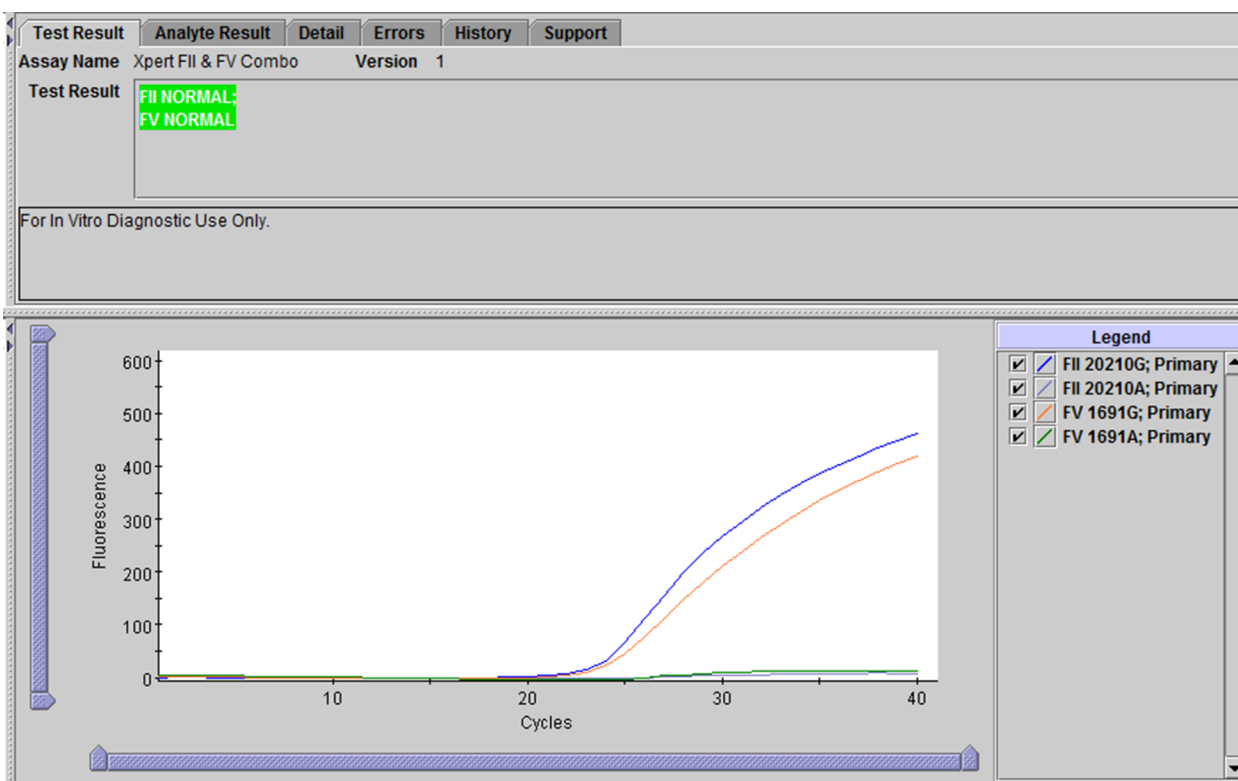


Figura 9. GeneXpert Instrument Systems - Finestra di visualizzazione dei risultati: risultato per fattore II e fattore V normale

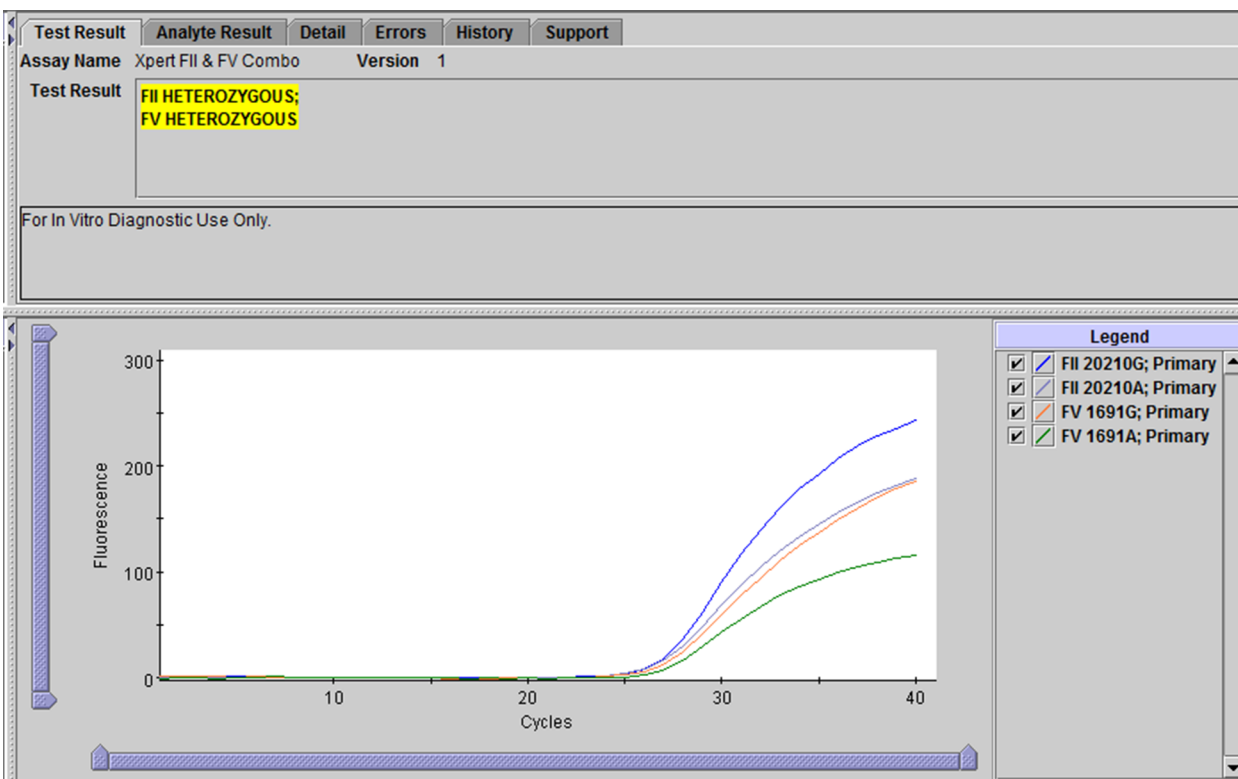


Figura 10. GeneXpert Instrument Systems - Finestra di visualizzazione dei risultati: risultato per fattore II e fattore V eterozigote

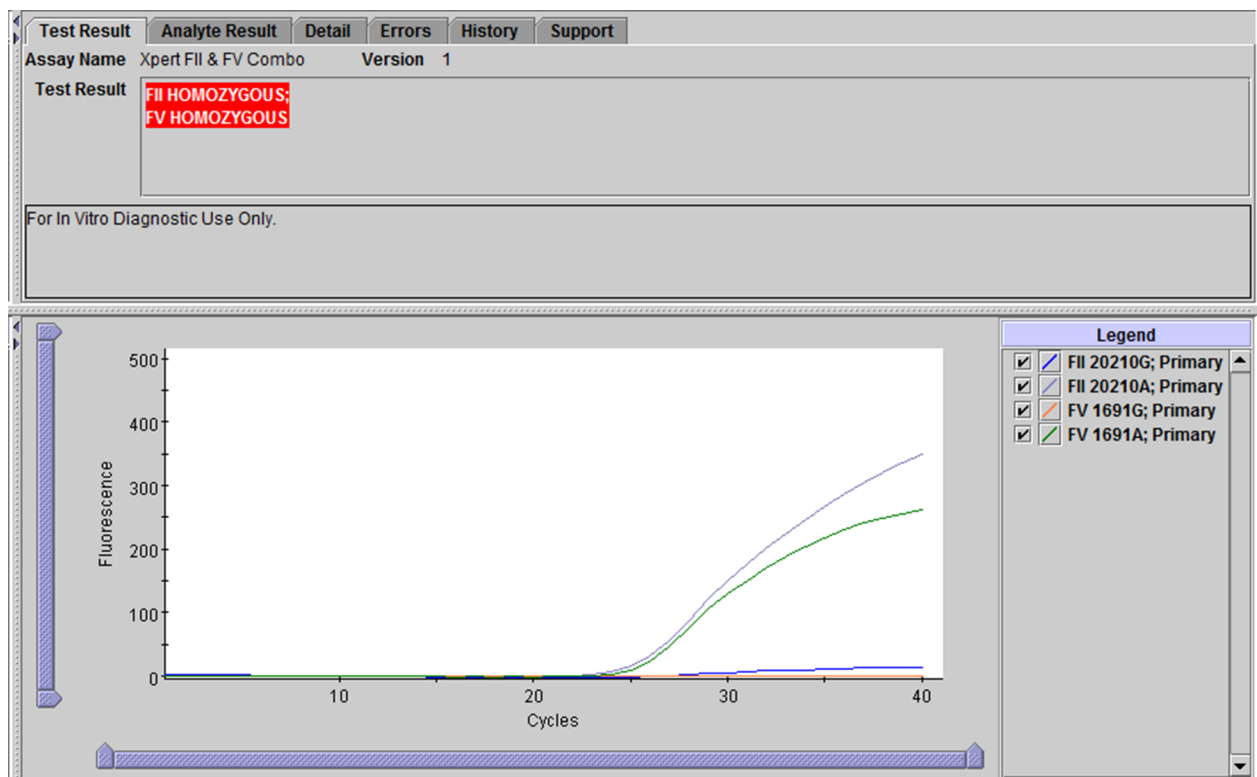


Figura 11. GeneXpert Instrument Systems - Finestra di visualizzazione dei risultati: risultato per fattore II e fattore V omozigote

NON VALIDO

La presenza o l'assenza degli alleli del fattore II/fattore V normali e mutanti non può essere determinata; ripetere il test 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 test in base alle istruzioni seguenti. Il controllo per la verifica della sonda non ha avuto esito positivo e il test 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 — RESPINTO* (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 test in base alle istruzioni seguenti. La quantità di dati raccolta non è sufficiente per generare i risultati del test (può accadere, per esempio, se l'operatore ha interrotto l'esecuzione di un test mentre era in corso).

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

16 Motivi per ripetere il test

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 del reagente. 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.

17 Limitazioni della procedura

- Le prestazioni del saggio Xpert Factor II & Factor V sono state convalidate seguendo esclusivamente le procedure indicate in queste istruzioni per l'uso. Qualsiasi modifica apportata a queste procedure può alterare le prestazioni del test. I risultati del saggio Xpert Factor II & Factor V devono essere interpretati contestualmente ad 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 rare mutazioni del fattore II nella regione di legame della sonda potrebbero interferire con il rilevamento del target e dare un risultato NON VALIDO (INVALID) o un falso risultato di mutazione OMOZIGOTE (HOMOZYGOUS) quando concordanti con la mutazione del fattore II c.*97G>A (G20210A).
- Le prestazioni del saggio Xpert Factor II & Factor V non sono state valutate con campioni provenienti da pazienti pediatrici.
- Errori di raccolta, manipolazione o conservazione o scambi dei campioni di analisi sono associati al rischio di risultati erranei. Per evitare risultati erranei, è necessario attenersi scrupolosamente alle istruzioni descritte in questa confezione.

18 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 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.

19 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 generale⁶.

20 Caratteristiche prestazionali

20.1 Prestazioni cliniche

Le caratteristiche prestazionali del saggio Xpert 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 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 i test dello studio eseguiti con il saggio Xpert 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 Factor II & Factor V sono state calcolate in relazione ai risultati del sequenziamento bidirezionale.

Saggio Xpert Factor II & Factor V

Un totale di 1.018 campioni è stato analizzato per il fattore II mediante il saggio Xpert 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 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 Factor II & Factor V e mediante sequenziamento bidirezionale. I risultati sono presentati nella Tabella 1.

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

Tabella 1. Prestazioni del saggio Xpert Factor II & Factor V rispetto al sequenziamento bidirezionale

Genotipo	N. di campioni analizzati	N. di rilevazioni corrette alla prima esecuzione	Numero di non validi ^a Rilevazioni alla prima esecuzione	Concordanza alla prima esecuzione	N. di rilevazioni corrette compresa la riesecuzione	N. di rilevazioni non valide alla riesecuzione	Concordanza dopo la riesecuzione
Fattore II G20210A							
WT ^b	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%
Totale	1025 ^c	982	43	95,8%	1018	7	99,3%
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%
Totale	1021 ^d	979	42	95,9%	1014	7	99,3%

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

^b WT (wildtype) è normale

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

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

20.2 Prestazioni analitiche

20.2.1 Specificità analitica

Per la valutazione della specificità analitica del saggio Xpert 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.

20.2.2 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.

20.2.3 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 di tre centri (5 campioni di analisi x 2 volte/giorno x 2 operatori per sito x 5 giorni x 3 centri). In ognuno dei 3 siti di analisi è stato usato un kit per il saggio Xpert Factor II & Factor V proveniente dallo stesso lotto. I saggi Xpert Factor II & Factor V sono stati condotti in conformità con la procedura Xpert Factor II & Factor V. I risultati sono riepilogati dalla Tabella 2 alla 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
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) ^a	98,3% (59/60) ^a
% concordanza totale per sito	100% (60/60)	100% (60/60)	98,3% (59/60) ^a	99,7% (299/300) ^a

^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) ^a	98,3% (59/60) ^a
% concordanza totale per sito	100% (60/60)	100% (60/60)	98,3% (59/60) ^a	99,7% (299/300) ^a

^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) ^a	98,3% (59/60) ^a
% concordanza totale per operatore	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 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) ^a	98,3% (59/60) ^a
% concordanza totale per operatore	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 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
NOR	100% (10/10)	100% (10/10)	100% (10/10)	100% (30/30)
Fattore II ETE/Fattore V NOR	100% (10/10)	100% (10/10)	100% (10/10)	100% (30/30)
Fattore II OMO/Fattore V NOR	100% (10/10)	100% (10/10)	100% (10/10)	100% (30/30)
Fattore II NOR/Fattore V OMO	100% (10/10)	100% (10/10)	100% (10/10)	100% (30/30)
Fattore II NOR/Fattore V ETE	100% (10/10)	100% (10/10)	100% (10/10)	100% (30/30)
% concordanza totale per lotto	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
NOR	100% (10/10)	100% (10/10)	100% (10/10)	100% (30/30)
Fattore II ETE/Fattore V NOR	100% (10/10)	100% (10/10)	100% (10/10)	100% (30/30)

Fattore II OMO/Fattore V NOR	100% (10/10)	100% (10/10)	100% (10/10)	100% (30/30)
Fattore II NOR/Fattore V OMO	100% (10/10)	100% (10/10)	100% (10/10)	100% (30/30)
Fattore II NOR/Fattore V ETE	100% (10/10)	100% (10/10)	100% (10/10)	100% (30/30)
% concordanza totale per lotto	100% (50/50)	100% (50/50)	100% (50/50)	100% (150/150)

21 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. REGOLAMENTO (CE) N. 1272/2008 DEL PARLAMENTO EUROPEO E DEL CONSIGLIO del 16 dicembre 2008 relativo alla classificazione, all’etichettatura e all’imballaggio delle sostanze e delle miscele che modifica e abroga, Elenco delle frasi di rischio, direttive 67/548/CEE e 1999/45/CE (che reca modifica al regolamento (CE) n. 1907/2006).
10. Occupational Safety and Health Standards, Hazard Communication, Toxic and Hazard Substances (March 26, 2012) (29 C.F.R., pt. 1910, subpt. Z).

22 Ubicazione delle sedi Cepheid

Corporate Headquarters

Cepheid
904 Caribbean Drive
Sunnyvale, CA 94089
USA

Telephone: + 1 408 541 4191
Fax: + 1 408 541 4192
www.cepheid.com

European Headquarters

Cepheid Europe SAS
Vira Solelh
81470 Maurens-Scopont
France

Telephone: + 33 563 825 300
Fax: + 33 563 825 301
www.cepheidinternational.com

23 Assistenza tecnica

Prima di contattare il Supporto Tecnico di Cepheid, raccogliere le seguenti informazioni:

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

Supporto Tecnico negli Stati Uniti d'America





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










Supporto tecnico in Francia

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

Le informazioni di contatto di tutti gli uffici di Supporto tecnico di Cepheid sono disponibili nel sito: www.cepheid.com/en/support/contact-us.

24 Tabella dei simboli

Simbolo	Significato
	Numero di catalogo
	Dispositivo medico diagnostico <i>in vitro</i>
	Non riutilizzare
	Codice lotto

Simbolo	Significato
	Consultare le istruzioni per l'uso
	Avviso
	Fabbricante
	Paese di fabbricazione
	Contenuto sufficiente per <i>n</i> test
CONTROL	Controllo
	Data di scadenza
CE	Marchio CE - Conformità europea
EC REP	Mandatario nella Comunità Europea
	Limiti di temperatura
	Rischi biologici
CH REP	Mandatario in Svizzera
	Importatore



Cepheid
904 Caribbean Drive
Sunnyvale, CA 94089
USA

+ 1 408 541 4191

+ 1 408 541 4192



Cepheid Europe SAS
Vira Solelh
81470 Maurens-Scopont
France

+ 33 563 825 300

+ 33 563 825 301



Cepheid Switzerland GmbH
Zürcherstrasse 66
Postfach 124, Thalwil
CH-8800
Switzerland



Cepheid Switzerland GmbH
Zürcherstrasse 66
Postfach 124, Thalwil
CH-8800
Switzerland



25 Cronologia delle revisioni

Descrizione delle modifiche: 301-0590, da Rev. D a Rev. E

Sezione	Descrizione della modifica
Interamente	Aggiunta di GeneXpert Infinity System.
5	Eliminazione di “palmare” dal lettore di codici a barre.
8	Rimozione del punto elenco corrispondente al controllo per DNA HemosIL FII & FV, P/N 0020003500.
13	Separazione delle procedure per GeneXpert Dx System e GeneXpert Infinity System.
14	Aggiornamento dei controlli esterni.
25	Aggiunta della sezione relativa alla Cronologia delle revisioni.