

Xpert[®] Factor II & Factor V

REF GXFIIFV-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.

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.

Marken-, Patent- und Urheberschutzangaben

Cepheid[®], das Cepheid-Logo, GeneXpert[®] und Xpert[®] sind Marken von Cepheid.
Windows[®] ist eine Marke der Microsoft Corporation.

MIT DEM ERWERB DIESES PRODUKTS WIRD DEM KÄUFER DAS NICHT ÜBERTRAGBARE RECHT ZU SEINER VERWENDUNG ENTSPRECHEND DER VORLIEGENDEN PACKUNGSBEILAGE GEWÄHRT. ES WERDEN KEINE ANDEREN RECHTE ÜBERTRAGEN, WEDER AUSDRÜCKLICH NOCH STILLSCHWEIGEND ODER DULDEND. DARÜBER HINAUS GEHT AUS DEM ERWERB DIESES PRODUKTS KEIN RECHT DES WEITERVERKAUFS HERVOR.

Copyright © Cepheid 2020. Alle Rechte vorbehalten.



Cepheid
904 Caribbean Drive
Sunnyvale, CA 94089
USA

Xpert[®] Factor II & Factor V

Zum Gebrauch in der *In-vitro*-Diagnostik.

1 Markenname

Xpert[®] FII & FV

2 Gebräuchlicher oder üblicher Name

Xpert Factor II & Factor V Assay

Xpert Factor II & Faktor V

3 Verwendungszweck

Der Xpert[®] Factor II & Factor V Assay ist ein qualitativer diagnostischer *In-vitro*-Genotypisierungstest für den Nachweis von Faktor-II- und Faktor-V-Allelen in mit Natriumcitrat oder EDTA antikoaguliertem Vollblut. Der Test wird auf dem Cepheid GeneXpert[®] Dx-System mit der Software-Version 4.0 oder höher durchgeführt. Dieser Test ist dazu bestimmt, Ergebnisse für Faktor-II- (G20210A) und Faktor-V-Leiden-Mutationen (G1691A) zur Unterstützung der Diagnose bei Personen mit Verdacht auf Thrombophilie zu liefern.

4 Zusammenfassung und Erklärung

Der Zusammenhang von Faktor-II(G20210A)- und Faktor-V-Leiden(G1691A)-Mutationen mit einem erhöhten Risiko für venöse Thrombosen ist gut dokumentiert.^{1, 2, 3, 4} Faktor II c.*97G>A wurde bisher G20210A oder 20210G>A4 genannt und wird allgemein als Prothrombin oder, wie im Xpert Factor II & Factor V Test, als Faktor II (G20210A) bezeichnet. Die Faktor-II(G20210A)-Mutation ist ein G-nach-A-Wechsel am Nukleotid 20210 in der 3' untranslatierten Region des Gens und ist mit erhöhten Plasmaspiegeln von Prothrombin verbunden.

Faktor V c.1601G>A (p.Arg534Gln) wurde bisher G1691A oder Arg506Gln genannt und wird allgemein als Faktor V Leiden oder FVL⁵ oder, wie im Xpert Factor II & Factor V Test, als Faktor V (G1691A) bezeichnet. Die Faktor-V-Leiden-Mutation (G1691A) ist ein G-nach-A-Wechsel an der Nukleotid-Position 1691 des Faktor-V-Gens und führt zu einem Austausch der Aminosäure Arginin durch Glutamin im Faktor-V-Protein, was eine Resistenz gegen die Spaltung durch aktiviertes Protein C (APC) verursacht.

Faktor-II(G20210A)- und Faktor-V-Leiden(G1691A)-Mutationen liegen bei 2 % bzw. 5 % der allgemeinen Bevölkerung vor.⁶

5 Verfahrensprinzip

Das GeneXpert Dx-System automatisiert und integriert die Probenreinigung, die Nukleinsäureamplifikation und den Nachweis der Zielsequenz in Vollblut mithilfe von Echtzeit-PCR-Assays. Das System besteht aus einem Instrument, einem PC, einem handgeführten Barcodescanner und einer vorinstallierten Software zur Durchführung von Tests und zur Anzeige der Ergebnisse. Das System beruht auf der Anwendung von Einwegkartuschen, die die PCR-Reagenzien enthalten und in denen der PCR-Prozess abläuft. Da die Kartuschen in sich abgeschlossen sind, werden Kreuzkontaminationen zwischen Proben verhindert. Eine vollständige Beschreibung des Systems ist im *Benutzerhandbuch für das GeneXpert Dx-System* zu finden.

Der Xpert Factor II & Factor V Assay enthält Reagenzien für den Nachweis von normalen und mutierten Faktor-II- und Faktor-V-Allelen in mit Natriumcitrat oder EDTA antikoaguliertem Vollblut. Jede Assay-Kartusche enthält außerdem eine Sondenprüfungskontrolle (Probe Check Control, PCC), die die Reagenz-Rehydrierung, die Füllung des PCR-Behälters in der Kartusche, die Sondenintegrität und die Farbstoffstabilität überprüft.

Die Primer und Sonden im Xpert Factor II & Factor V Assay bestimmen den Genotyp des Faktor-II-Gens (an der Position 20210) und/oder des Faktor-V-Gens (an der Position 1691).

6 Reagenzien

6.1 Enthaltene Materialien



Das Xpert Factor II & Factor V Assay-Kit enthält ausreichend Reagenzien zur Verarbeitung von 10 Proben oder Qualitätskontroll-Proben.

Das Kit enthält die folgenden Materialien:

Xpert Factor II & Factor V Assay-Kartuschen mit integrierten Reaktionsbehältern	10
Kügelchen 1 und Kügelchen 2 (gefriergetrocknet)	Je 1 pro Kartusche
Reagenz 1	3,0 ml pro Kartusche
Reagenz 2 (Guanidiniumchlorid)	3,0 ml pro Kartusche
CD	1 pro Kit

- Assay-Definitionsdateien (Assay Definition Files, ADF)
- Anweisungen zum Importieren der ADF in die GeneXpert-Software
- Gebrauchsanweisung (Packungsbeilage)

Hinweis Sicherheitsdatenblätter (Safety Data Sheets, SDS) sind auf den Webseiten www.cepheid.com oder www.cepheidinternational.com unter dem Register **SUPPORT** erhältlich.

Hinweis Das bovine Serumalbumin (BSA) in den Kügelchen dieses Produkts wurde ausschließlich aus bovinem Plasma gewonnen und hergestellt, das aus den USA stammt. Die Tiere erhielten keinerlei Wiederkäuer- oder anderes Tierprotein mit dem Futter und wurden ante- und post-mortem Tests unterzogen. Bei der Verarbeitung wurde das Material nicht mit anderen Tiermaterialien vermischt.

7 Aufbewahrung und Handhabung



- Die Assay-Kartuschen des Xpert Factor II & Factor V Assays bei 2–28 °C aufbewahren.
- Verwenden Sie keine Kartuschen mit abgelaufenem Verfallsdatum.
- Die Kartuschen erst dann öffnen, wenn die Testdurchführung unmittelbar bevorsteht.
- Kartusche und Reagenzien innerhalb von 30 Minuten nach dem Öffnen des Kartuschendeckels verwenden.

8 Erforderliche, jedoch nicht im Lieferumfang enthaltene Materialien

- GeneXpert Dx-System (Bestellnummer hängt von der Konfiguration ab): GeneXpert Instrument, Computer, Barcodescanner und *Benutzerhandbuch für das GeneXpert Dx-System*.

Hinweis Die Bestellnummer des GeneXpert Dx-Systems hängt von der Konfiguration ab. Wenden Sie sich bitte an Cepheid, um die gewünschte Konfiguration und die entsprechende Bestellnummer zu erhalten.

- GeneXpert Dx-System: Softwareversion 4.0 oder neuer.
- Pipette mit aerosolresistenten Filterspitzen zum Dispensieren von 50 µl mit Natriumcitrat oder EDTA antikoaguliertem Blut.
- HemosIL FII & FV DNA-Kontrolle, Teile-Nr. 0020003500.

9 Warnhinweise und Vorsichtsmaßnahmen



- Alle biologischen Proben und auch die gebrauchten Kartuschen sind als potenziell infektiös zu behandeln. Da es oft unmöglich ist, potenziell infektiöse Proben zu erkennen, sind alle biologischen Proben gemäß den üblichen Vorsichtsmaßnahmen zu behandeln. Richtlinien für den Umgang mit Proben sind von den U.S. Centers for Disease Control and Prevention⁷ und dem Clinical and Laboratory Standards Institute⁸ erhältlich.
- Die Sicherheitsvorkehrungen der jeweiligen Einrichtung für den Umgang mit Chemikalien und biologischen Proben sind zu befolgen.
- Verwenden Sie die Kartuschen vor Ablauf des auf dem Testkit angegebenen Verfalldatums.
- Öffnen Sie den Deckel der Xpert Factor II & Factor V Assay-Kartusche nur, wenn die Probe zugefügt werden soll.
- Keine Kartuschen verwenden, die nach der Zugabe der Probe fallen gelassen oder geschüttelt wurden.
- Kartuschen mit beschädigtem (z. B. verbogenem oder zerbrochenem) Reaktionsbehälter dürfen nicht verwendet werden.
- Jede Einweg-Kartusche des Xpert Factor II & Factor V Assays dient zur Durchführung eines einzigen Tests. Benutzte Kartuschen dürfen nicht wiederverwendet werden.
- Biologische Proben, Transfervorrichtungen und gebrauchte Kartuschen sind als infektiös anzusehen und mit den üblichen Vorsichtsmaßnahmen zu handhaben. Halten Sie sich bezüglich der angemessenen Entsorgung gebrauchter Kartuschen und nicht verwendeter Reagenzien an die Umweltschutzvorschriften Ihrer Einrichtung. Diese Materialien können chemischen Sondermüll darstellen, der gemäß bestimmten nationalen oder regionalen Vorgehensweisen entsorgt werden muss. Falls die Vorschriften des jeweiligen Landes bzw. der jeweiligen Region keine klaren Anweisungen zur Entsorgung enthalten, sollten biologische Proben und gebrauchte Kartuschen gemäß den Richtlinien zur Handhabung und Entsorgung von medizinischen Abfällen der WHO (Weltgesundheitsorganisation) entsorgt werden.



- Das Xpert Factor II & Factor V Assay-Kit bei 2-28 °C aufbewahren.
- Die Kartuschen erst dann öffnen, wenn die Testdurchführung unmittelbar bevorsteht.
- Sollte der Innendruck in der Kartusche über den vom Hersteller festgelegten Grenzwert hinaus ansteigen, wird der Durchlauf automatisch abgebrochen und das Ergebnis **FEHLER (ERROR)** ausgegeben.

10 Chemische Gefahren^{9, 10}

- UN-GHS-Gefahrenpiktogramm:
- Signalwort: ACHTUNG
- **UN-GHS-Gefahrenhinweise**
 - Möglicherweise gesundheitsschädlich bei Verschlucken
 - Verursacht Hautreizungen
 - Verursacht schwere Augenreizung
- **UN-GHS-Sicherheitshinweise**
 - **Prävention**
 - Nach Gebrauch gründlich waschen.
 - Schutzhandschuhe/Schutzkleidung/Augenschutz/Gesichtsschutz tragen
 - **Reaktion**
 - BEI BERÜHRUNG MIT DER HAUT: Mit viel Wasser und Seife waschen.
 - Besondere Behandlung: Siehe zusätzliche Erste-Hilfe-Informationen.
 - Bei Hautreizung: Ärztlichen Rat einholen/ärztliche Hilfe hinzuziehen
 - Kontaminierte Kleidung ausziehen und vor erneutem Tragen waschen.
 - BEI KONTAKT MIT DEN AUGEN: Einige Minuten lang behutsam mit Wasser ausspülen. Vorhandene Kontaktlinsen nach Möglichkeit entfernen. Weiter spülen.
 - Bei anhaltender Augenreizung: Ärztlichen Rat einholen/ärztliche Hilfe hinzuziehen
 - Bei Unwohlsein GIFTINFORMATIONSZENTRUM oder Arzt anrufen.

11 Entnahme, Transport und Aufbewahrung der Patientenproben



Zur Gewinnung adäquater Proben müssen die Anweisungen in diesem Abschnitt genau befolgt werden.

- Nur geschultes, zugelassenes Personal darf Blut in EDTA- oder Natriumcitrat-Röhrchen abnehmen.
- Die Blutproben dürfen nicht zentrifugiert oder durch Entfernung von Plasma konzentriert werden.
- Bei Raumtemperatur (22-28 °C) aufbewahrtes Blut ist innerhalb von 24 Stunden zu verarbeiten. Bei längerer Aufbewahrung der Proben (über 24 Stunden) sind sie bei 2-8 °C aufzubewahren. Blut ist bis zu 15 Tage stabil, wenn es bei 2-8 °C aufbewahrt wird. Die Blutproben können auch bei -20 °C oder -80 °C bis zu 3 Monate aufbewahrt werden. Die Verwendung eines gefrier-tauglichen Aufbewahrungsgefäßes wird empfohlen.

Hinweis

Gefrorenes Blut vollständig bei Raumtemperatur auftauen lassen. Das mehrmalige Einfrieren/Auftauen von Blut wird nicht empfohlen.

- Die Probe durch 5-maliges Umdrehen mischen, bevor sie in die Kartusche gegeben wird.

12 Verfahren

12.1 Vorbereitung der Kartusche

Wichtig Der Test muss innerhalb von 15 Minuten nach Zugabe der Probe in die Kartusche begonnen werden.

Zugabe der Probe in die Kartusche:

1. Entnehmen Sie die Kartusche aus dem Testkit. Die Kartusche braucht vor der Verwendung nicht auf Raumtemperatur vorgewärmt zu werden.
2. Die Probe durch mindestens 5-maliges Umdrehen des Röhrchens mischen, bis sie homogen ist.
3. Den Kartuschendeckel öffnen. Überführen Sie 50 µl des mit Natriumcitrat oder EDTA antikoagulierten Bluts mit einer Pipette mit aerosolresistenter Spitze auf den Boden der Probenkammer der Xpert Factor II & Factor V Assay-Kartusche. Siehe Abbildung 1.
4. Den Kartuschendeckel schließen.

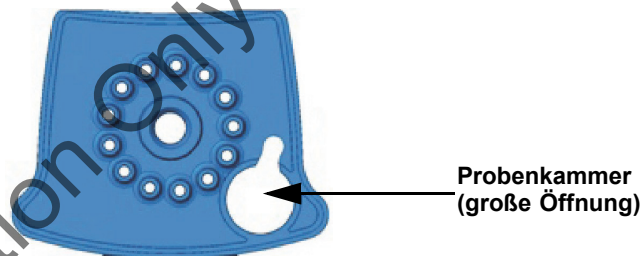


Abbildung 1. Xpert Factor II & Factor V Kartusche (Draufsicht)

12.2 Testbeginn

Wichtig Vergewissern Sie sich vor Beginn des Tests, dass die Assay-Definitionsdateien für den Xpert FII, Xpert FV und Xpert FII & FV Combo Assay in die Software importiert wurden. Die Assay-Definitionsdateien befinden sich auf der im Lieferumfang enthaltenen CD.

In diesem Abschnitt werden die grundlegenden Schritte zur Durchführung des Assays beschrieben. Genauere Anweisungen entnehmen Sie bitte dem *Benutzerhandbuch für das GeneXpert Dx-System*.

1. Schalten Sie das GeneXpert Dx Instrument ein und anschließend den Computer. Die GeneXpert-Software startet automatisch.
2. Melden Sie sich mit Ihrem Benutzernamen und Kennwort bei der GeneXpert Dx-Systemsoftware an.
3. Klicken Sie im GeneXpert Dx-Systemfenster auf **Test erstellen (Create Test)**. Das Fenster „Test erstellen“ (Create Test) erscheint.
4. Scannen Sie den Barcode an der Kartusche ein.
5. Tippen Sie im Feld „Proben-ID“ (Sample ID) die Proben-ID ein. Vergewissern Sie sich, dass Sie die richtige Proben-ID eintippen. Alternativ können Sie den Proben-Barcode einscannen. Die Proben-ID ist mit den Testergebnissen verknüpft und erscheint im Fenster „Ergebnisse anzeigen“ (View Results) sowie in allen Berichten.

The screenshot shows the 'Test erstellen' (Create Test) window. It includes the following fields and options:

- Patienten-ID: P123456
- Proben-ID: S123456
- Assay auswählen: Xpert FV (selected)
- Modul auswählen: Xpert FV (selected)
- Chargen-ID: Xpert FII & FV Combo
- Testtyp: (dropdown menu)
- Probentyp: Andere (selected)
- Anderer Probentyp: (input field)
- Anmerkungen: (text area)

At the bottom of the window, there are three buttons: 'Test starten', 'Kartuschen-Barcode scannen', and 'Abbrechen'.

Abbildung 2. Fenster „Test erstellen“ (Create Test)

6. Wählen Sie aus dem Dropdown-Menü **Assay auswählen (Select Assay)** den jeweils durchzuführenden Assay aus.
7. Klicken Sie auf **Test starten (Start Test)**. Tippen Sie im Dialogfenster, das sich daraufhin öffnet, Ihr Kennwort ein.
8. Öffnen Sie die Klappe des Instrumentenmoduls mit der grün blinkenden Anzeige und laden Sie die Kartusche.
9. Schließen Sie die Klappe. Der Test beginnt und die grüne Anzeige hört auf zu blinken. Wenn der Test abgeschlossen ist, geht die Lampe aus.
10. Warten Sie ab, bis das System die Klappenverriegelung freigibt. Öffnen Sie anschließend die Modulklappe und entfernen Sie die Kartusche.
11. Die benutzten Kartuschen müssen gemäß den Standardverfahren Ihrer Einrichtung in geeigneten Probenabfallbehältern entsorgt werden.

13 Anzeigen und Drucken der Ergebnisse

Detaillierte Anweisungen zum Anzeigen und Ausdrucken von Ergebnissen sind im *Benutzerhandbuch für das GeneXpert Dx-System* zu finden.

Hinweis

Sollten Sie Ergebnisse mithilfe eines LIS berichten, prüfen Sie, ob die Ergebnisse mit LIS den Systemergebnissen für die Patienten-ID entsprechen. Wenn dies nicht der Fall ist, berichten Sie ausschließlich die Systemergebnisse.

14 Qualitätskontrolle

CONTROL

Jeder Test enthält eine Sondenprüfungskontrolle (PCC).

Sondenprüfungskontrolle (PCC) - Vor Beginn der PCR-Reaktion verifiziert das GeneXpert Dx-System anhand des gemessenen Fluoreszenzsignals der Sonden die Rehydrierung der Kügelchen, die Füllung des Reaktionsbehälters, die Unversehrtheit der Sonde und die Stabilität des Farbstoffs. Die Sondenprüfung gilt als bestanden, wenn die festgelegten Akzeptanzkriterien erfüllt sind.

Externe Kontrollen - Die HemosIL FII & FV DNA-Kontrolle (Teile-Nr. 0020003500) wurde für das externe Qualitätskontrollprogramm des Xpert FII & FV Assays entwickelt und validiert.

Alternativ können normale, heterozygote oder homozygote Faktor-II-/Faktor-V-Vollblutproben (mit Natriumcitrat oder EDTA antikoaguliert) für Schulungszwecke, als Leistungstest und als externe Qualitätskontrolle für den Xpert Factor II & Factor V Assay verwendet werden. Zellbasiertes Material ist erforderlich. Verwenden Sie keine extrahierte DNA. Zur Einhaltung von lokalen, bundesstaatlichen und bundesweiten Akkreditierungsvorschriften können ggf. externe Kontrollen verwendet werden.

15 Interpretation der Ergebnisse

Das GeneXpert Dx-System interpretiert die Ergebnisse anhand der gemessenen Fluoreszenzsignale und eingebauten Algorithmen, um die Genotypen zu identifizieren, und zeigt sie in den nachstehend dargestellten Fenstern „Ergebnisse anzeigen“ (View Results) an.

Das Ergebnis „NORMAL“ bedeutet Wildtyp (keine Mutation festgestellt); das Ergebnis „HOMOZYGOT“ (HOMOZYGOUS) bedeutet „homozygot mutiert“ (Mutation in beiden Allelen festgestellt); das Ergebnis „HETEROZYGOT“ (HETEROZYGOUS) bedeutet „heterozygot mutiert“ (Mutation in einem Allel festgestellt).

Xpert FII-Ergebnisse bei Auswahl des Assaytyps FII aus dem Dropdown-Menü finden Sie in Abbildung 3 bis Abbildung 5.

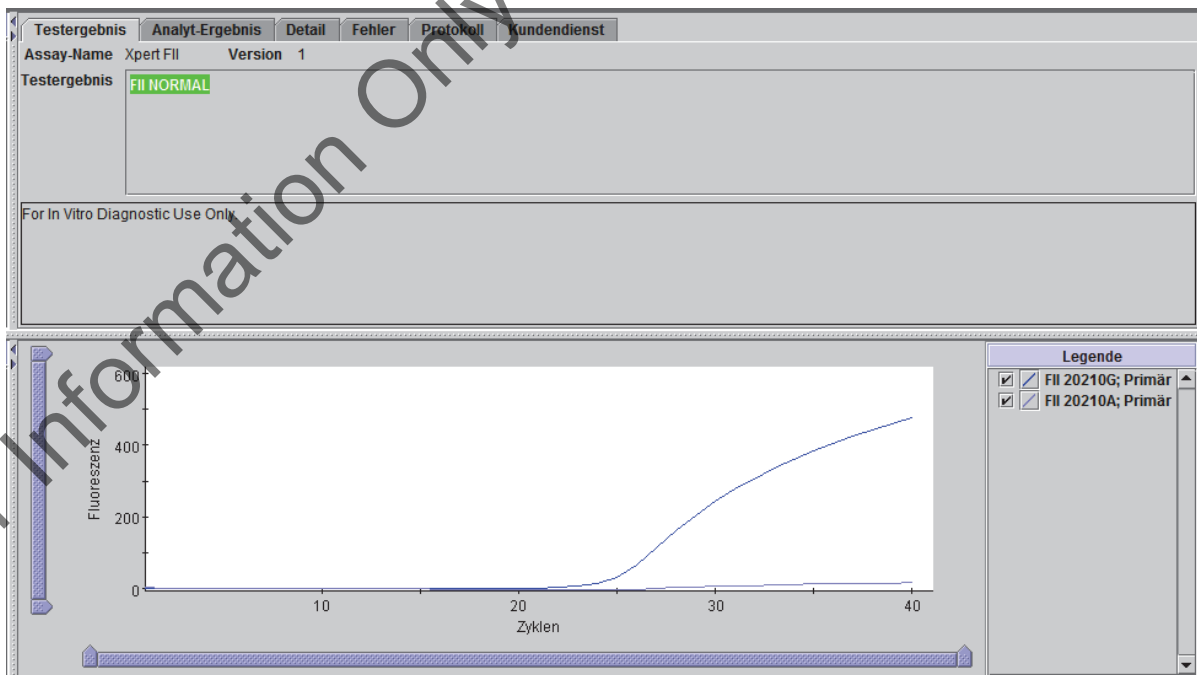


Abbildung 3. GeneXpert Dx-System - Fenster „Ergebnisse anzeigen“ (View Results), Ergebnis „Normal“ für Faktor II

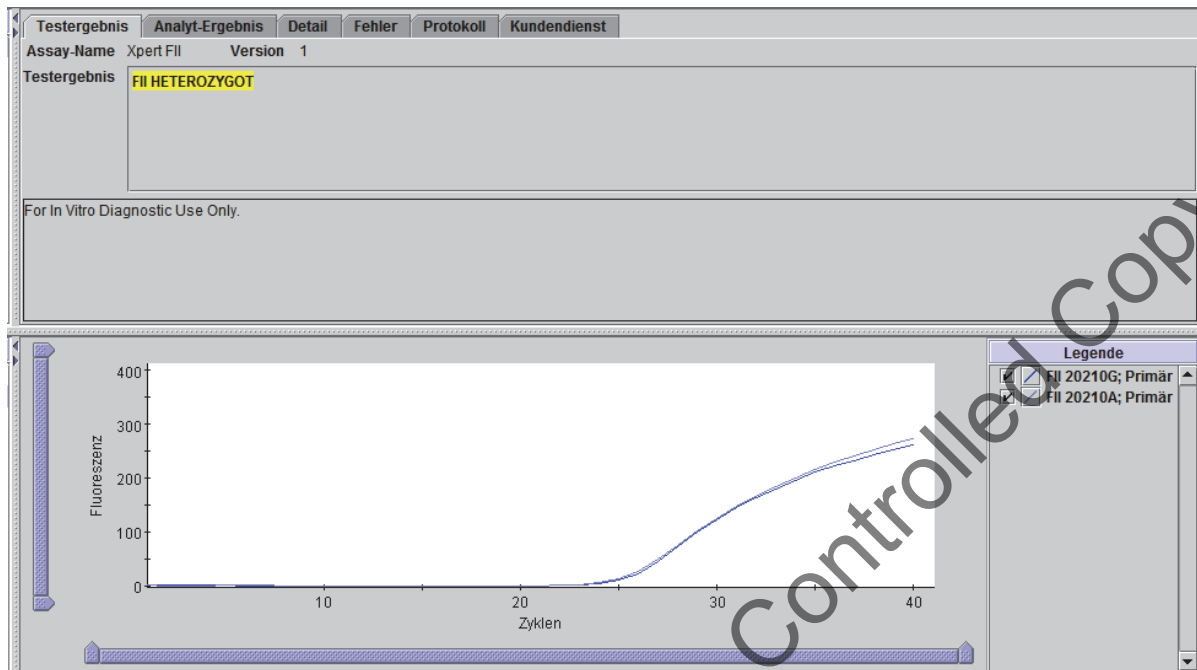


Abbildung 4. GeneXpert Dx-System - Fenster „Ergebnisse anzeigen“ (View Results), Ergebnis „Heterozygot“ (Heterozygous) für Faktor II

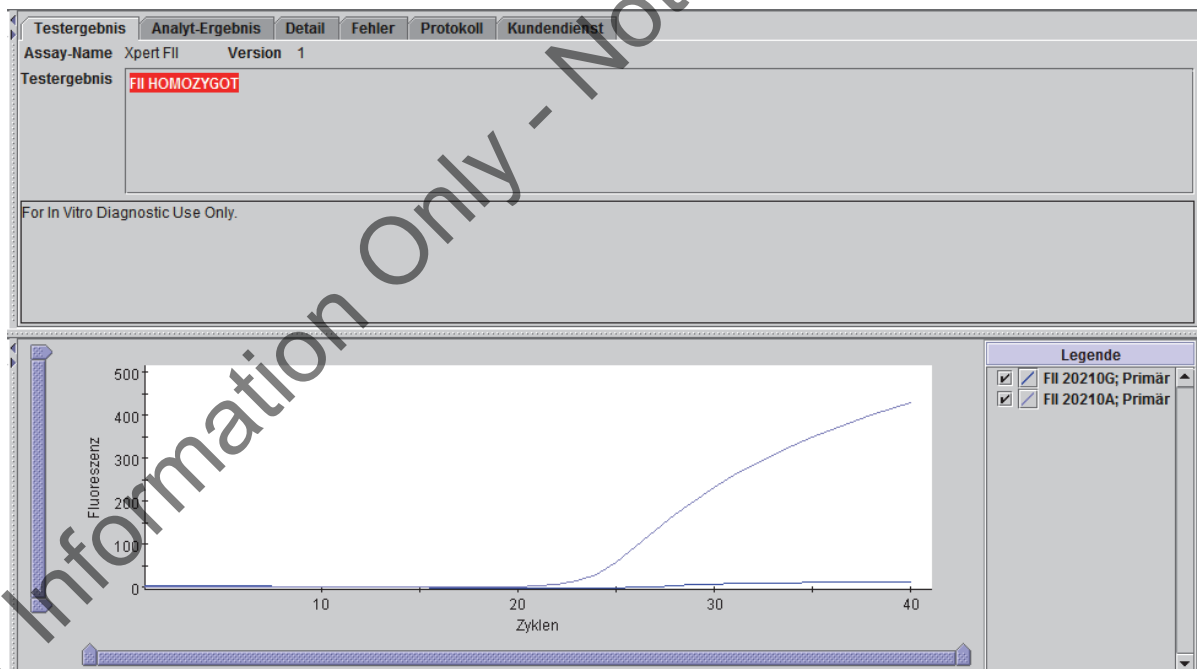


Abbildung 5. GeneXpert Dx-System - Fenster „Ergebnisse anzeigen“ (View Results), Ergebnis „Homozygot“ (Homozygous) für Faktor II

Xpert FV-Ergebnisse bei Auswahl des Assaytyps FV aus dem Dropdown-Menü finden Sie in Abbildung 6 bis Abbildung 8.

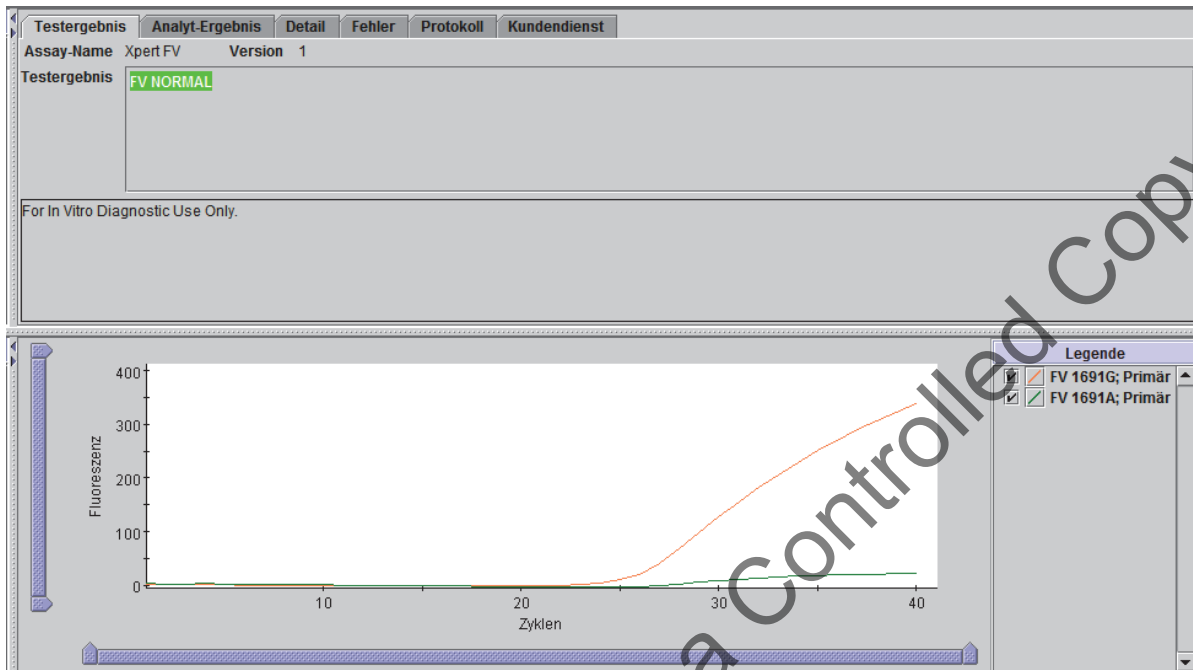


Abbildung 6. GeneXpert Dx-System - Fenster „Ergebnisse anzeigen“ (View Results), Ergebnis „Normal“ für Faktor V

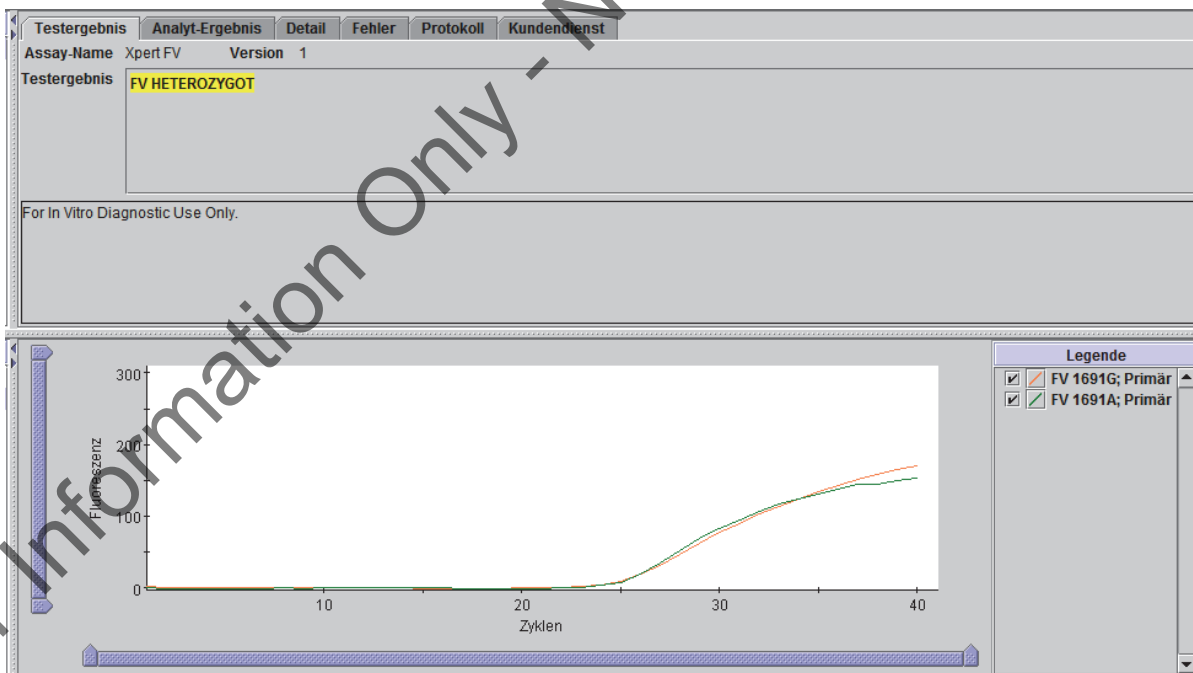


Abbildung 7. GeneXpert Dx-System - Fenster „Ergebnisse anzeigen“ (View Results), Ergebnis „Heterozygot“ (Heterozygous) für Faktor V

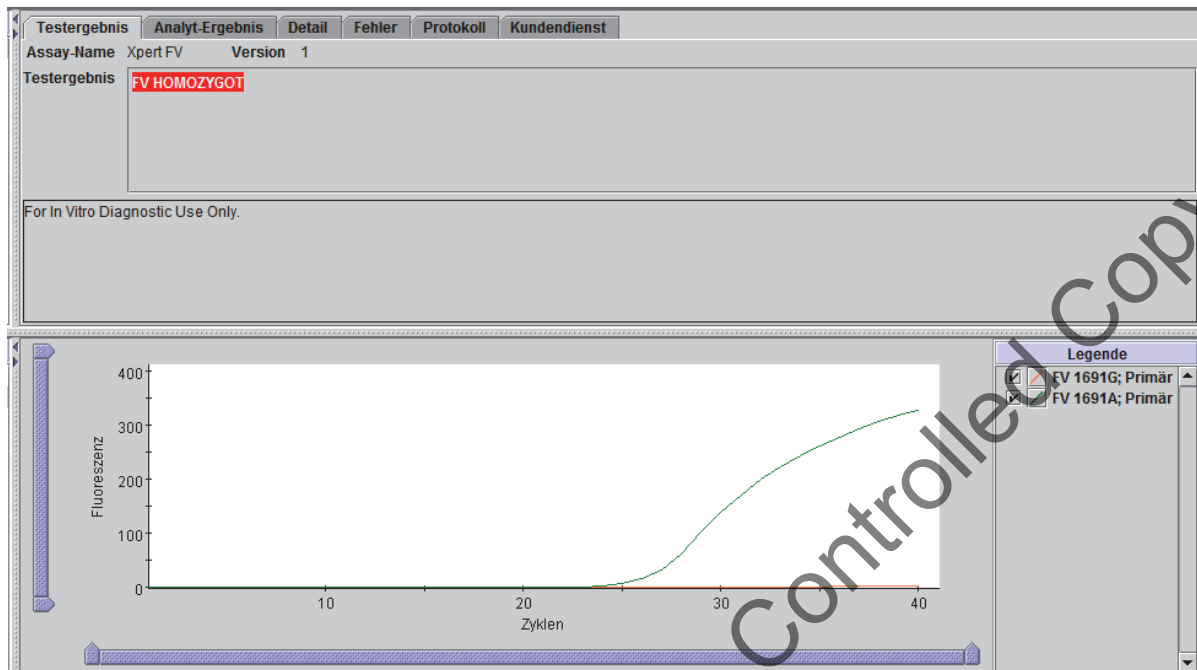


Abbildung 8. GeneXpert Dx-System - Fenster „Ergebnisse anzeigen“ (View Results), Ergebnis „Homozygot“ (Homozygous) für Faktor V

Xpert FII- und FV-Ergebnisse bei Auswahl des Assaytyps FII & FV Combo aus dem Dropdown-Menü finden Sie in Abbildung 9 bis Abbildung 11.

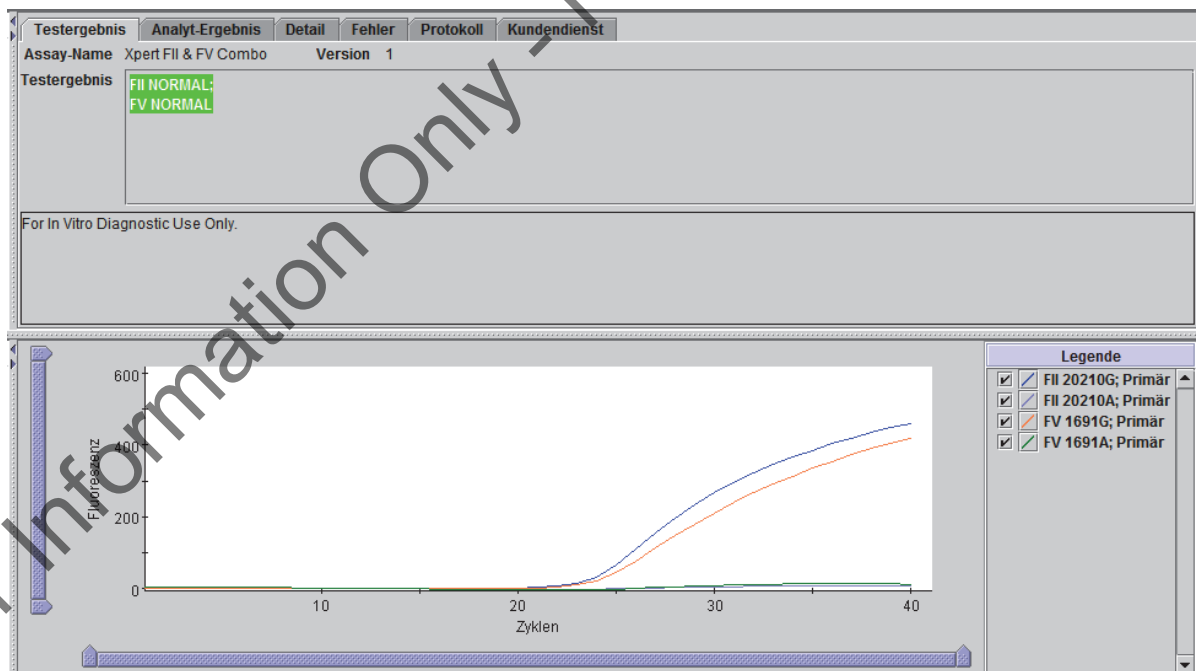


Abbildung 9. GeneXpert Dx-System - Fenster „Ergebnisse anzeigen“ (View Results), Ergebnis „Normal“ für Faktor II und Faktor V

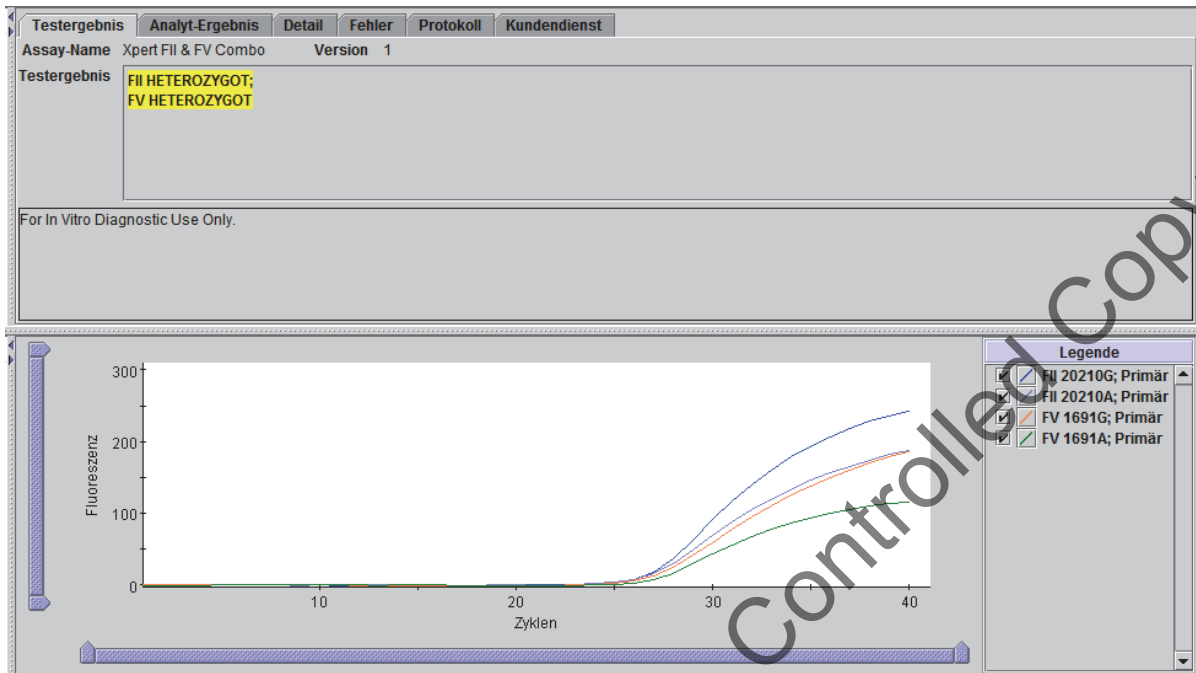


Abbildung 10. GeneXpert Dx-System - Fenster „Ergebnisse anzeigen“ (View Results), Ergebnis „Heterozygot“ (Heterozygous) für Faktor II und Faktor V

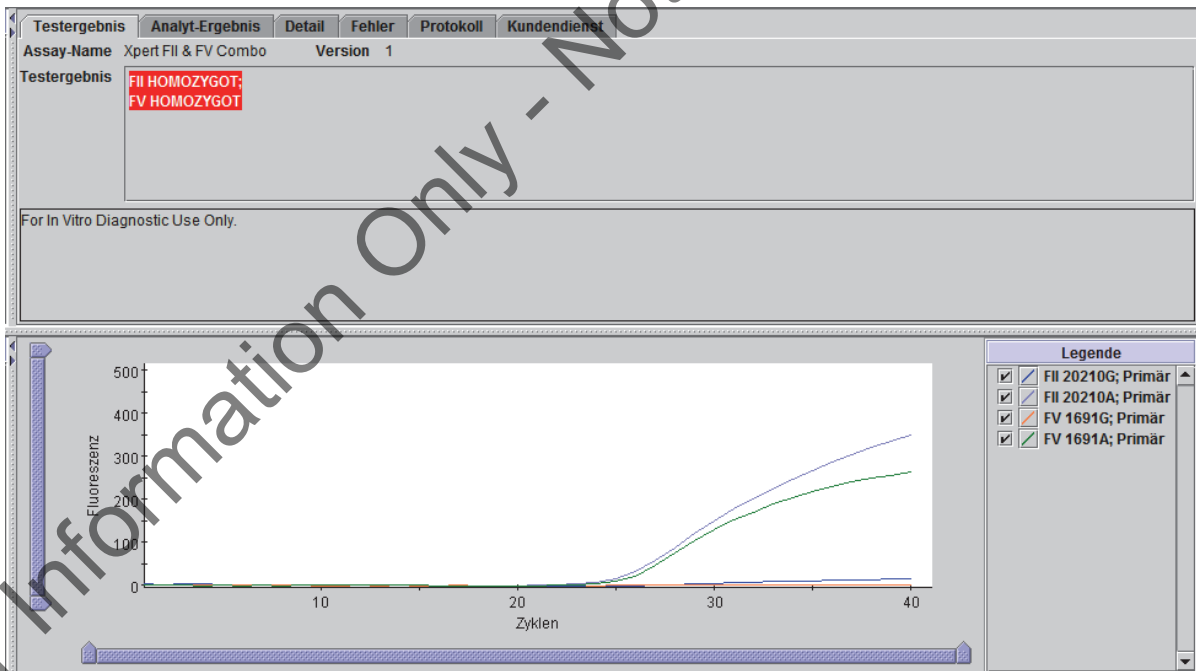


Abbildung 11. GeneXpert Dx-System - Fenster „Ergebnisse anzeigen“ (View Results), Ergebnis „Homozygot“ (Homozygous) für Faktor II und Faktor V

UNGÜLTIG (INVALID)

Das Vorliegen oder die Abwesenheit von normalen und mutierten Faktor-II-/Faktor-V-Allelen kann nicht festgestellt werden; wiederholen Sie den Assay gemäß den Anweisungen weiter unten. Die Probe wurde nicht sachgemäß bearbeitet oder die PCR wurde gehemmt.

- **UNGÜLTIG (INVALID)** – Das Vorliegen oder die Abwesenheit von normalen und mutierten Faktor-II-/Faktor-V-Allelen kann nicht festgestellt werden.
- Sondenprüfung – BESTANDEN (Probe Check – PASS); alle Ergebnisse der Sondenprüfung waren erfolgreich.

FEHLER (ERROR)

Das Vorliegen oder die Abwesenheit von normalen und mutierten Faktor-II-/Faktor-V-Allelen kann nicht festgestellt werden; wiederholen Sie den Assay gemäß den Anweisungen weiter unten. Die Sondenprüfungskontrolle ist fehlgeschlagen und der Assay wurde abgebrochen, weil möglicherweise ein Reaktionsbehälter unzureichend gefüllt war oder ein Problem mit der Sondenintegrität festgestellt wurde. Fehler können auch durch Überschreiten der Druckgrenzen oder den Ausfall einer Systemkomponente verursacht werden.

- **FEHLER (ERROR)**
- Sondenprüfung – FEHLGESCHLAGEN (Probe Check – FAIL)*; ein oder mehrere Sondenprüfungsergebnisse sind fehlgeschlagen.

*Wenn die Sondenprüfung bestanden wurde, wurde der Fehler durch den Ausfall einer Systemkomponente verursacht.

KEIN ERGEBNIS (NO RESULT)

Das Vorliegen oder die Abwesenheit von normalen und mutierten Faktor-II-/Faktor-V-Allelen kann nicht festgestellt werden; wiederholen Sie den Assay gemäß den Anweisungen weiter unten. Es wurden nicht genügend Daten gesammelt, um ein Assayergebnis zu erzielen (zum Beispiel kann dies der Fall sein, wenn der Benutzer einen laufenden Test abgebrochen hat).

- **KEIN ERGEBNIS (NO RESULT)**
- Sondenprüfung – nicht zutreffend (Probe Check – NA)

16 Gründe für eine Wiederholung des Assays

Den Assay mit einer neuen Kartusche (benutzte Kartuschen nicht wieder verwenden) und einem neuen Aliquot von mit Natriumcitrat oder EDTA antikoaguliertem Vollblut wiederholen:

- Das Ergebnis **UNGÜLTIG (INVALID)** bedeutet, dass die Probe nicht sachgemäß bearbeitet oder die PCR gehemmt wurde.
- Das Ergebnis **FEHLER (ERROR)** bedeutet, dass die Sondenprüfungskontrolle fehlgeschlagen ist und der Assay abgebrochen wurde, möglicherweise weil ein Reaktionsbehälter unzureichend gefüllt war oder ein Problem mit der Integrität der Reagenziensonde festgestellt wurde. Fehler können auch durch Überschreiten der Druckgrenzen oder den Ausfall einer Systemkomponente verursacht werden.
- **KEIN ERGEBNIS (NO RESULT)** bedeutet, dass nicht genügend Daten erfasst wurden. Beispielsweise könnte der Bediener den Test abgebrochen haben, bevor er abgeschlossen war.

17 Einschränkungen

- Die Leistung des Xpert Factor II & Factor V Assays wurde nur mit den in dieser Packungsbeilage beschriebenen Vorgehensweisen validiert. Änderungen an diesen Vorgehensweisen können die Leistung des Tests beeinträchtigen. Die Ergebnisse des Xpert Factor II & Factor V Assays sollten in Zusammenschau mit anderen, dem Arzt zur Verfügung stehenden Labor- und klinischen Daten interpretiert werden.
- Seltene Faktor-V-Mutationen (A1696G, G1689A und A1692C) sowie jegliche zusätzliche SNPs in der Sondenbindungsregion können den Nachweis der Zielsequenzen stören und zu einem UNGÜLTIGEN (INVALID) Ergebnis führen.
- Andere, seltene Faktor-II-Mutationen in der Sondenbindungsregion können den Nachweis der Zielsequenzen stören und zu einem UNGÜLTIGEN (INVALID) Ergebnis bzw. einem falschen Ergebnis HOMOZYGOT (HOMOZYGOUS) mutiert führen, wenn gleichzeitig die Mutation Faktor II c.*97G>A (G20210A) vorliegt.
- Die Leistung des Xpert Factor II & Factor V Assays wurde nicht mit Proben von pädiatrischen Patienten geprüft.
- Zu fehlerhaften Testergebnissen kann es kommen, wenn die Probe unsachgemäß entnommen, gehandhabt oder gelagert wurde oder Proben verwechselt wurden. Zur Vermeidung fehlerhafter Ergebnisse sind die Anweisungen in dieser Packung sorgfältig zu befolgen.

18 Störsubstanzen

Blutproben von Patienten, die mit Heparin oder Bluttransfusionen behandelt werden, können die PCR-Ergebnisse potenziell stören und zu ungünstigen oder fehlerhaften Ergebnissen führen.

Studien mit potenziellen Störsubstanzen ergaben keine Hemmung bei bis zu 14,3 USP-Einheiten/ml Heparin, bis zu 16 mg/dl Bilirubin, bis zu 250 mg/dl zugefügtem Cholesterin oder bis zu 1932 mg/dl Gesamtriglyceriden (Lipiden). Bei Verwendung von Vollblutproben, die einmal eingefroren und wieder aufgetaut wurden (hämolyisiertes Blut), wurde keine Hemmung beobachtet. Zwischen gepaarten Proben, die in EDTA- oder Natriumcitrat-Röhrchen entnommen wurden, wurde keine statistisch signifikante Differenz beobachtet.

19 Erwartete Werte

Faktor-II(G20210A)- und Faktor-V-Leiden(G1691A)-Mutationen liegen bei 2 % bzw. 5 % der allgemeinen Bevölkerung vor⁶.

20 Leistungsmerkmale

20.1 Klinische Leistungsfähigkeit

Die Leistungsmerkmale des Xpert Factor II & Factor V Assays wurden im Rahmen einer multizentrischen Studie an sieben Einrichtungen anhand eines Vergleichs des Xpert Factor II & Factor V Assays mit bidirektionaler Sequenzierung bestimmt.

Es wurden Proben von Patienten verwendet, deren routinemäßige Versorgung die Entnahme von Vollblut für Faktor-II- und/oder Faktor-V-Tests erforderte. Zuerst wurden die Proben mit den Routinemethoden jedes teilnehmenden Labors getestet, und anschließend wurden Aliquoten für die Studientests mit dem Xpert Factor II & Factor V Assay am GeneXpert-System entnommen. Überschüssige DNA wurde zur bidirektionalen Sequenzierung an ein Vertragslabor gesandt.

Die Leistung des Xpert Factor II & Factor V Assays wurde relativ zu den Ergebnissen der bidirektionalen Sequenzierung berechnet.

20.2 Gesamtergebnisse

Xpert Factor II & Factor V Assay

Insgesamt 1018 Proben wurden sowohl mit dem Xpert Factor II & Factor V Assay als auch mit bidirektionaler Sequenzierung auf Faktor II getestet. Insgesamt 1014 Proben wurden sowohl mit dem Xpert Factor II & Factor V Assay als auch mit bidirektionaler Sequenzierung auf Faktor V getestet. Zur Aufstockung der Anzahl homozygoter Proben wurden außerdem sechs humane genomische DNA-Proben, die homozygot für Faktor II waren, und fünf Proben, die homozygot für Faktor V waren, mit dem Xpert Factor II & Factor V Assay und mit bidirektionaler Sequenzierung getestet. Die Ergebnisse sind in Tabelle 1 aufgeführt.

Die Gesamtgenauigkeit des Xpert Factor II & Factor V Assays relativ zur bidirektionalen Sequenzierung betrug 99,3 % für sowohl Faktor II als auch Faktor V.

Tabelle 1. Leistung des Xpert Factor II & Factor V Assays im Vergleich zu bidirektionaler Sequenzierung

Genotyp	Getestete Anzahl	Anzahl korrekter Ergebnisse im ersten Durchlauf	Anzahl ungültiger ^a Ergebnisse im ersten Durchlauf	Übereinstimmung beim ersten Durchlauf	Anzahl korrekter Ergebnisse einschließlich Wiederholungsdurchlauf	Anzahl ungültiger ^a Ergebnisse im Wiederholungsdurchlauf	Übereinstimmung nach Wiederholungsdurchlauf
Faktor 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 %
Gesamt	1025 ^b	982	43	95,8 %	1018	7	99,3 %
Faktor V G1691A							
WT	895	860	35	96,1 %	889	6	99,3 %
HET	114	108	6	94,7 %	113	1	99,1 %
HOM	12	11	1	91,7 %	12	0	100,0 %
Gesamt	1021 ^c	979	42	95,9 %	1014	7	99,3 %

- a. Keine abweichenden Ergebnisse. Ungültige Ergebnisse beziehen sich auf „nicht feststellbare“ Ergebnisse.
b. Für 4 Proben waren keine bidirektionalen Sequenzierungsergebnisse für Faktor II verfügbar.
c. Für 8 Proben waren keine bidirektionalen Sequenzierungsergebnisse für Faktor V verfügbar.
d. WT (Wildtyp) ist normal.

Analytische Spezifität

Zur Beurteilung der analytischen Spezifität des Xpert Factor II & Factor V Assays wurden normale Gensequenzen mit „stillen“ Einzelnukleotid-Polymorphismen (Single Nucleotide Polymorphisms, SNPs) innerhalb und außerhalb der Sondenbindungsregion synthetisiert. Die Anwesenheit des zusätzlichen SNP in der Sondenbindungsregion führte in den meisten Fällen zu ungültigen Ergebnissen. Wenn ein gültiges Ergebnis erhalten wurde, wurde auch der korrekte Genotyp angegeben.

Die Anwesenheit von zusätzlichen SNPs außerhalb der Sondenbindungsregion führte zu korrekter Genotypisierung.

Analytische Sensitivität

Es wurden Studien durchgeführt, um die minimal und maximal erforderliche Patientenprobenmenge (sowohl mit EDTA als auch mit Natriumcitrat antikoaguliertes Vollblut) für die Ermittlung des korrekten Genotyps zu bestimmen, derart, dass die Untergrenze des 95%-Konfidenzintervalls für den geschätzten Anteil der „korrekten Ergebnisse“ größer als 95 % ist.

Mit EDTA und Natriumcitrat antikoagulierte Blutproben (n=20) wurden mit 8 verschiedenen Volumina von 5 µl bis 250 µl getestet.

Der Assay kann Volumina von 15 µl bis 100 µl tolerieren, doch liegt das empfohlene Probenvolumen bei 50 µl, um das mit einem zu geringen oder übermäßigen Probenvolumen verbundene Fehlerrisiko zu minimieren.

Reproduzierbarkeit

Ein aus 5 Proben bestehendes Panel, das jeweils einen der unten aufgeführten Probentypen enthielt, wurde in Doppelbestimmung von zwei verschiedenen Bedienern an 5 verschiedenen Tagen und an drei Zentren getestet (3 Proben x 2 Durchläufe/Tag x 2 Bediener pro Zentrum x 5 Tage x 3 Zentren). Es wurde jeweils eine Charge Xpert Factor II & Factor V Assay-Kit an jedem der 3 Testzentren verwendet. Die Xpert Factor II & Factor V Assays wurden gemäß dem Xpert Factor II & Factor V Verfahren durchgeführt. Die Ergebnisse sind in Tabelle 2 bis Tabelle 5 zusammengefasst.

Untersuchungspanel:

1. Eine Probe mit normalen (Wildtyp) Allelen für Faktor II und Faktor V;
2. Eine Probe mit heterozygoter Faktor-II-Mutation (d. h. ein mutiertes und ein Wildtyp-Allel für das Faktor-II-Gen) und mit normalen (Wildtyp) Allelen für Faktor V;
3. Eine Probe mit homozygoter Faktor-II-Mutation (d. h. zwei mutierte Allele für das Faktor-II-Gen) und mit normalen (Wildtyp) Allelen für Faktor V;

4. Eine Probe mit normalen (Wildtyp) Allelen für Faktor II und homozygoter Faktor-V-Mutation (d.h. zwei mutierte Allele für das Faktor-V-Gen);
5. Eine Probe mit normalen (Wildtyp) Allelen für Faktor II und heterozygoter Faktor-V-Mutation (d. h. ein mutiertes und ein Wildtyp Allel für das Faktor-V-Gen).

Eine Zusammenfassung der Ergebnisse nach Zentrum ist in Tabelle 2 und Tabelle 3 aufgeführt. Es gab keinen statistisch signifikanten Unterschied zwischen den Zentren bei den Ergebnissen für Faktor II ($p=1,000$) oder Faktor V ($p=1,000$).

Tabelle 2. Zusammenfassung der Reproduzierbarkeitsergebnisse nach Zentrum - Faktor II

Proben-ID	Zentrum 1	Zentrum 2	Zentrum 3	Prozentuale Gesamtübereinstimmung (Proben)
NOR	100 % (20/20)	100 % (20/20)	100 % (20/20)	100 % (60/60)
Faktor II HET/Faktor V NOR	100 % (20/20)	100 % (20/20)	100 % (20/20)	100 % (60/60)
Faktor II HOM/Faktor V NOR	100 % (20/20)	100 % (20/20)	100 % (20/20)	100 % (60/60)
Faktor II NOR/Faktor V HOM	100 % (20/20)	100 % (20/20)	100 % (20/20)	100 % (60/60)
Faktor II NOR/Faktor V HET	100 % (20/20)	100 % (20/20)	95,0 % (19/20) ^a	98,3 % (59/60) ^a
Gesamtübereinstimmung nach Zentrum in %	100 % (60/60)	100 % (60/60)	98,3 % (59/60) ^a	99,7 % (299/300) ^a

a. Keine abweichenden Ergebnisse. Eine Probe war nach dem Wiederholungstest nicht feststellbar.

Tabelle 3. Zusammenfassung der Reproduzierbarkeitsergebnisse nach Zentrum - Faktor V

Proben-ID	Zentrum 1	Zentrum 2	Zentrum 3	Prozentuale Gesamtübereinstimmung (Proben)
NOR	100 % (20/20)	100 % (20/20)	100 % (20/20)	100 % (60/60)
Faktor II HET/Faktor V NOR	100 % (20/20)	100 % (20/20)	100 % (20/20)	100 % (60/60)
Faktor II HOM/Faktor V NOR	100 % (20/20)	100 % (20/20)	100 % (20/20)	100 % (60/60)
Faktor II NOR/Faktor V HOM	100 % (20/20)	100 % (20/20)	100 % (20/20)	100 % (60/60)
Faktor II NOR/Faktor V HET	100 % (20/20)	100 % (20/20)	95,0 % (19/20) ^a	98,3 % (59/60) ^a
Gesamtübereinstimmung nach Zentrum in %	100 % (60/60)	100 % (60/60)	98,3 % (59/60) ^a	99,7 % (299/300) ^a

a. Keine abweichenden Ergebnisse. Eine Probe war nach dem Wiederholungstest nicht feststellbar.

Eine Zusammenfassung der Ergebnisse nach Bediener finden Sie in Tabelle 4 und Tabelle 5. Es gab keinen statistisch signifikanten Unterschied zwischen den Zentren bei den Ergebnissen für Faktor II ($p=1,000$) oder Faktor V ($p=1,000$).

Tabelle 4. Zusammenfassung der Reproduzierbarkeitsergebnisse nach Bediener - Faktor II

Proben-ID	Zentrum 1		Zentrum 2		Zentrum 3		Prozentuale Gesamtübereinstimmung (Proben)
	Bed. 1	Bed. 2	Bed. 1	Bed. 2	Bed. 1	Bed. 2	
NOR	100 % (10/10)	100 % (10/10)	100 % (10/10)	100 % (10/10)	100 % (10/10)	100 % (10/10)	100 % (60/60)
Faktor II HET/ Faktor V NOR	100 % (10/10)	100 % (10/10)	100 % (10/10)	100 % (10/10)	100 % (10/10)	100 % (10/10)	100 % (60/60)
Faktor II HOM/ Faktor V NOR	100 % (10/10)	100 % (10/10)	100 % (10/10)	100 % (10/10)	100 % (10/10)	100 % (10/10)	100 % (60/60)
Faktor II NOR/ Faktor V HOM	100 % (10/10)	100 % (10/10)	100 % (10/10)	100 % (10/10)	100 % (10/10)	100 % (10/10)	100 % (60/60)
Faktor II NOR/ Faktor V HET	100 % (10/10)	100 % (10/10)	100 % (10/10)	100 % (10/10)	100 % (10/10)	90,0 % (9/10) ^a	98,3 % (59/60) ^a
Gesamtübereinstimmung nach Bediener in %	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. Keine abweichenden Ergebnisse. Eine Probe war nach dem Wiederholungstest nicht feststellbar.

Tabelle 5. Zusammenfassung der Reproduzierbarkeitsergebnisse nach Bediener - Faktor V

Proben-ID	Zentrum 1		Zentrum 2		Zentrum 3		Prozentuale Gesamtübereinstimmung (Proben)
	Bed. 1	Bed. 2	Bed. 1	Bed. 2	Bed. 1	Bed. 2	
NOR	100 % (10/10)	100 % (10/10)	100 % (10/10)	100 % (10/10)	100 % (10/10)	100 % (10/10)	100 % (60/60)
Faktor II HET/ Faktor V NOR	100 % (10/10)	100 % (10/10)	100 % (10/10)	100 % (10/10)	100 % (10/10)	100 % (10/10)	100 % (60/60)
Faktor II HOM/ Faktor V NOR	100 % (10/10)	100 % (10/10)	100 % (10/10)	100 % (10/10)	100 % (10/10)	100 % (10/10)	100 % (60/60)
Faktor II NOR/ Faktor V HOM	100 % (10/10)	100 % (10/10)	100 % (10/10)	100 % (10/10)	100 % (10/10)	100 % (10/10)	100 % (60/60)
Faktor II NOR/ Faktor V HET	100 % (10/10)	100 % (10/10)	100 % (10/10)	100 % (10/10)	100 % (10/10)	90,0 % (9/10) ^a	98,3 % (59/60) ^a
Gesamtübereinstimmung nach Bediener in %	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. Keine abweichenden Ergebnisse. Eine Probe war nach dem Wiederholungstest nicht feststellbar.

Zur Ermittlung der Reproduzierbarkeit zwischen den Chargen wurde das 5-Proben-Panel wie oben beschrieben zweimal täglich über 5 Tage unter Verwendung jeder der drei Assay-Chargen an einem Zentrum analysiert (5 Proben x 2 Durchläufe/Tag x 3 Chargen x 5 Tage). Eine Zusammenfassung der Ergebnisse nach Charge finden Sie in Tabelle 6 und Tabelle 7. Es gab keinen statistisch signifikanten Unterschied zwischen den Chargen bei den Ergebnissen für Faktor II ($p=1,000$) oder Faktor V ($p=1,000$).

Tabelle 6. Zusammenfassung der Reproduzierbarkeitsergebnisse nach Charge - Faktor II

Proben-ID	Charge 1	Charge 2	Charge 3	Prozentuale Gesamtübereinstimmung (Proben)
NOR	100 % (10/10)	100 % (10/10)	100 % (10/10)	100 % (30/30)
Faktor II HET/Faktor V NOR	100 % (10/10)	100 % (10/10)	100 % (10/10)	100 % (30/30)
Faktor II HOM/Faktor V NOR	100 % (10/10)	100 % (10/10)	100 % (10/10)	100 % (30/30)
Faktor II NOR/Faktor V HOM	100 % (10/10)	100 % (10/10)	100 % (10/10)	100 % (30/30)
Faktor II NOR/Faktor V HET	100 % (10/10)	100 % (10/10)	100 % (10/10)	100 % (30/30)
Gesamtübereinstimmung nach Charge in %	100 % (50/50)	100 % (50/50)	100 % (50/50)	100 % (150/150)

Tabelle 7. Zusammenfassung der Reproduzierbarkeitsergebnisse nach Charge - Faktor V

Proben-ID	Charge 1	Charge 2	Charge 3	Prozentuale Gesamtübereinstimmung (Proben)
NOR	100 % (10/10)	100 % (10/10)	100 % (10/10)	100 % (30/30)
Faktor II HET/Faktor V NOR	100 % (10/10)	100 % (10/10)	100 % (10/10)	100 % (30/30)
Faktor II HOM/Faktor V NOR	100 % (10/10)	100 % (10/10)	100 % (10/10)	100 % (30/30)
Faktor II NOR/Faktor V HOM	100 % (10/10)	100 % (10/10)	100 % (10/10)	100 % (30/30)
Faktor II NOR/Faktor V HET	100 % (10/10)	100 % (10/10)	100 % (10/10)	100 % (30/30)
Gesamtübereinstimmung nach Charge in %	100 % (50/50)	100 % (50/50)	100 % (50/50)	100 % (150/150)

21 Literatur

1. Thrombophilia as a multigenic disease. B. Zoeller, P.G. de Frutos, A. Hillarp, B. Dahlback. *Haematologica* 1999; 84:59–70.
2. Screening for inherited thrombophilia: indications and therapeutic implications. V. De Stefano, E. Rossi, K. Paciaroni, G. Leone. *Haematologica* 2002; 87:1095 – 1108.
3. Laboratory investigation of thrombophilia. A Tripodi and P.M. Mannucci. *Clinical Chemistry* 2001; 47:1597–1606.
4. Zhang et al. Venous thromboembolism laboratory testing (factor V Leiden and factor II c.*97G>A), 2018 update: a technical standard of the American College of Medical Genetics and Genomics (ACMG). *Genetics in Medicine* (2018) 20:1489–1498
5. Montagnana M, Lippi G, Danese E. An Overview of Thrombophilia and Associated Laboratory Testing. *Methods Mol Biol.* 2017;1646:113-135
6. Grody WW, Griffin JH, Taylor AK, *et al.* American college of medical genetic consensus statement on factor V Leiden mutation testing. *Genetics in Medicine.* 2001; 3(2):139–148.
7. Centers for Disease Control and Prevention. Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories. 5th Edition HHS Publication No. (CDC) 21-1112 Revised December 2009 <https://www.cdc.gov/labs/BMBL.html>.
8. Clinical and Laboratory Standards Institute document M29-A4—Protection of Laboratory Workers From Occupationally Acquired Infections; Approved Guideline 4th Edition. 2014
9. REGULATION (EC) No 1272/2008 OF THE EUROPEAN PARLIAMENT AND OF THE COUNCIL of 16 December 2008 on the classification labeling and packaging of substances and mixtures amending and repealing, List of Precautionary Statements, Directives 67/548/EEC and 1999/45/EC (amending Regulation (EC) No 1907/2007).
10. Occupational Safety and Health Standards, Hazard Communication, Toxic and Hazard Substances (March 26, 2012) (29 C.F.R., pt. 1910, subpt. Z).

22 Standorte der Cepheid-Zentralen

Konzernzentrale

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

Konzernzentrale in Europa

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

23 Technische Unterstützung

Halten Sie bitte die folgenden Informationen bereit, wenn Sie den technischen Kundendienst von Cepheid kontaktieren:

- Produktname
- Chargenbezeichnung
- Seriennummer des Instruments
- Fehlermeldungen (falls vorhanden)
- Software-Version und gegebenenfalls „Service Tag“ (Service-Kennnummer) des Computers















Kontaktdaten

Vereinigte Staaten
Telefon: + 1 888 838 3222
E-Mail: techsupport@cepheid.com

Frankreich
Telefon: + 33 563 825 319
E-Mail: support@cepheideurope.com

Die Kontaktinformationen aller Vertretungen des technischen Kundendienstes von Cepheid finden Sie auf unserer Website:
www.cepheid.com/en/CustomerSupport.

24 Symbolerklärung

Symbol	Bedeutung
	Bestellnummer
	<i>In-vitro</i> -Diagnostikum
	Nicht wiederverwenden
	Chargencode
	Gebrauchsanweisung beachten
	Vorsicht
	Hersteller
	Herstellungsland
	Inhalt reicht aus für <n> Tests
	Kontrolle
	Verfallsdatum
	CE-Kennzeichnung – Einhaltung der EU-Richtlinien
	Temperaturbegrenzung
	Biologische Risiken



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



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



For Information Only - Not a Controlled Copy