

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.

Заяви про торговельні марки, патенти й авторське право

Cepheid[®], логотип Cepheid, GeneXpert[®] і Xpert[®] є торговельними марками компанії Cepheid.

Windows[®] є торговельною маркою корпорації «Майкрософт» (Microsoft Corporation).

У РЕЗУЛЬТАТІ ПРИДБАННЯ ЦЬОГО ПРОДУКТУ ПОКУПЕЦЬ ОТРИМУЄ ПРАВО НА ЙОГО ВИКОРИСТАННЯ ВІДПОВІДНО ДО ЦЬОЇ ІНСТРУКЦІЇ-ВКЛАДИША, ЯКЕ НЕ ПІДЛЯГАЄ ПЕРЕДАЧІ. ЖОДНІ ІНШІ ПРАВА НЕ НАДАЮТЬСЯ ПРЯМО ЧИ НЕЯВНО АБО НА ПІДСТАВІ ПРАВОВОЇ ПРЕЗУМПЦІЇ. КРИМ ТОГО, НА ПІДСТАВІ ПРИДБАННЯ ЦЬОГО ПРОДУКТУ НЕ НАДАЮТЬСЯ ПРАВА НА ПЕРЕПРОДАЖ.

Copyright © Cepheid 2020 р. Усі права захищено.



Cepheid
904 Caribbean Drive
Sunnyvale, CA 94089
USA (США)

Xpert[®] Factor II & Factor V

Для діагностики *in vitro*.

1 Патентована назва

Xpert[®] FII & FV

2 Загальна або звичайна назва

Тест Xpert Factor II & Factor V

Xpert Factor II & Factor V

3 Цільове призначення

Тест Xpert[®] Factor II & Factor V — це якісний діагностичний тест на визначення генотипу *in vitro* для виявлення алелів фактора II та фактора V у цільній крові з антикоагулянтом цитратом натрію або ЕДТА. Тест проводиться за допомогою програмного забезпечення Serheid GeneXpert[®] Dx System версії 4.0 або вище. Цей тест є допоміжним засобом діагностики в людей із підозрою на тромбофілію і призначений для отримання результатів щодо мутацій фактора II (G20210A) і фактора V Лейдена (G1691A).

4 Короткі відомості та пояснення

Документально доведено зв'язок мутацій фактора II (G20210A) і фактора V Лейдена (G1691A) з підвищеним ризиком венозного тромбозу.^{1, 2, 3, 4} Фактор II с.*97G>A раніше позначався як G20210A або 20210G> A4 і його, зазвичай, називають протромбіном або, як у тесті Xpert Factor II & Factor V, фактором II (G20210A). Мутація фактора II (G20210A) зумовлена заміщенням Г на А у нуклеотиді 20210 у 3' нетрансльовану область гена і пов'язана з підвищенням рівня протромбіну в плазмі.

Фактор V с.1601G>A (р.Arg534Gln) раніше позначався як G1691A або Arg506Gln і його, зазвичай, називають фактором V Лейдена або FVL⁵, або, як у тесті Xpert Factor II & Factor V, фактором V (G1691A). Мутація фактора V Лейдена (G1691A) зумовлена заміщенням Г на А у нуклеотидному положенні 1691 гена фактора V, що призводить до заміни амінокислоти аргініну глутаміном у білку фактора V, викликаючи тим самим стійкість до розщеплення активованим протеїном С (APC).

Мутації фактора II (G20210A) і фактора V Лейдена (G1691A) присутні у відповідно 2 % і 5 % населення в цілому.⁶

5 Принцип виконання аналізу

У системі GeneXpert Dx інтегровані й автоматично виконуються такі процеси: очищення зразка, ампліфікація нуклеїнових кислот і виявлення цільової послідовності в цільній крові за допомогою полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР), що виконується в режимі реального часу. Система складається з приладу, персонального комп'ютера, ручного сканера штрих-кодів та попередньо завантаженого програмного забезпечення для виконання тестів і перегляду результатів. Для роботи із системою потрібні одноразові картриджі, які містять реактиви для ПЛР і у яких відбувається процес ПЛР. Оскільки картриджі є замкнутими системами, усунута ймовірність перехресної контамінації між зразками. Повний опис систем див. в *Керівництві оператора системи GeneXpert Dx*.

Тест Xpert Factor II & Factor V містить реактиви для виявлення нормальних та мутантних алелів фактора II та фактора V у цільній крові з антикоагулянтом цитратом натрію або ЕДТА. Кожний картридж тесту також містить контроль якості зондів (Probe Check Control, PCC), призначений для перевірки правильності регідратації реактивів, заповнення пробірки для проведення ПЛР у картриджі, цілісності зондів і стабільності барвника.

Праймери та зонди тесту Xpert Factor II & Factor V визначають генотип гена фактора II (у положенні 20210) та/або гена фактора V (у положенні 1691).

6 Реактиви

6.1 Матеріали, що входять до комплекту поставки



Комплект тесту Xpert Factor II & Factor V містить достатньо реактивів для аналізу 10 зразків або проб контролю якості.

До комплекту входять:

Картриджі тесту Xpert Factor II & Factor V з вбудованими реакційними пробірками	10
Гранула 1 і гранула 2 (ліофілізовані)	1 кожного з типів в одному картриджі
Реактив 1	3,0 ml (мл) в одному картриджі
Реактив 2 (гуанідину гідрохлорид)	3,0 ml (мл) в одному картриджі
Компакт-диск	1 у комплекті
<ul style="list-style-type: none"> • Файли з описом тесту (Assay Definition File, ADF) • Інструкція з імпортування файлу ADF у програмне забезпечення GeneXpert • Інструкція з використання (інструкція-вкладиш) 	

Примітка

Паспорти безпеки речовини (Safety Data Sheets, SDS) можна знайти за адресою www.cepheid.com або www.cepheidinternational.com у вкладці **ПІДТРИМКА (ПОДДЕРЖКА)**.

Примітка

Для виготовлення бичачого сироваткового альбуміну (БСА), що входить до складу гранул цього продукту, використовувалася лише плазма крові биків, вирощених у Сполучених Штатах Америки. У їжу биків не додають білки, отримані з тканин жуйних тварин, а також інші білки тваринного походження. Усіх тварин обстежили до та після забою. Під час виробництва не відбувалося змішування сировини з іншими матеріалами тваринного походження.

7 Зберігання та поводження



- Зберігайте картриджі тесту Xpert Factor II & Factor V за температури 2–28 °C.
- Не використовуйте картриджі із закінченим терміном придатності.
- Не відкривайте картридж доти, доки не будете готові почати виконання тесту.
- Використайте картридж та реактиви упродовж 30 хвилин після відкриття кришки картриджа.

8 Необхідні матеріали, що не входять до комплекту поставки

- Система GeneXpert Dx (номер за каталогом залежить від конфігурації): Прилад GeneXpert, комп'ютер, сканер штрих-кодів і Керівництво оператора системи GeneXpert Dx.

Примітка

Номер системи GeneXpert Dx за каталогом залежить від конфігурації. Для отримання інформації щодо необхідної конфігурації та відповідного номера за каталогом зв'яжіться з компанією Cepheid.

- Система GeneXpert Dx: Програмне забезпечення версії 4.0 або вище.
 - Піпетка для розподілення 50 мкл крові з антикоагулянтном цитратом натрію або ЕДТА з фільтрувальним наконечником, стійким до аерозолів.
- HemosIL FII & FV DNA Control, P/N 0020003500.

9 Застереження та запобіжні заходи



- Усі біологічні зразки, зокрема використані картриджі, слід вважати можливими переносниками збудників інфекційних захворювань. Оскільки часто неможливо передбачити, що може переносити інфекцію, під час поводження зі всіма біологічними зразками потрібно дотримуватися стандартних запобіжних заходів. Методичні рекомендації щодо поводження зі зразками надаються Центрами з контролю та профілактики захворювань США (U.S. Centers for Disease Control and Prevention)⁷ та Інститутом клінічних і лабораторних стандартів (Clinical and Laboratory Standards Institute)⁸.
- Дотримуйтеся правил техніки безпеки з роботи з хімічними речовинами та поводження з біологічними зразками, що прийняті в установі.
- Використовуйте картриджі до закінчення терміну придатності, зазначеного на комплекті.
- Відкривайте кришку картриджа тесту Xpert Factor II & Factor V лише для внесення зразка.
- Не використовуйте картридж, який впав або був струшений після додавання зразка.
- Не використовуйте картридж із пошкодженою (наприклад, зігнутою або розбитою) реакційною пробіркою.



- Кожен одноразовий картридж тесту Xpert Factor II & Factor V застосовується для виконання одного тесту. Не використовуйте картриджі повторно.
- Біологічні зразки, пристрої для перенесення та використані картриджі слід вважати можливими переносниками збудників інфекційних захворювань, які вимагають дотримання стандартних запобіжних заходів. Для правильної утилізації використаних картриджів і невикористаних реактивів дотримуйтеся прийнятих в установі правил захисту довкілля. Ці матеріали можуть мати властивості хімічно небезпечних відходів і вимагати виконання спеціальних національних або регіональних процедур для їх утилізації. Якщо прийняті в країні або регіоні правила не дають чітких указівок щодо правильної утилізації цих відходів, біологічні зразки та використані картриджі слід утилізувати з дотриманням правил ВООЗ [Всесвітньої організації охорони здоров'я] щодо поводження з медичними відходами та їх утилізації.



- Зберігайте комплект тесту Xpert Factor II & Factor V за температури 2–28 °C.
- Не відкривайте кришку картриджа доти, доки не будете готові почати виконання тесту.
- У разі перевищення встановленої виробником межі внутрішнього тиску, виконання буде автоматично перервано, і відобразиться повідомлення про результат **ПОМИЛКА (ОШИБКА)**.

10 Небезпечні хімічні фактори^{9, 10}

- Символи небезпеки УГС ООН:
- Сигнальне слово: **ЗАСТЕРЕЖЕННЯ**
- Заяви про небезпеку УГС ООН**
 - Може бути шкідливим у разі проковтування
 - Викликає подразнення шкіри
 - Викликає серйозне подразнення очей
- Заяви про заходи безпеки УГС ООН**
 - Профілактика**
 - Після використання ретельно вимити.
 - Використовувати захисні рукавички/захисний одяг/засоби захисту очей/засоби захисту обличчя

Заходи реагування

- У РАЗІ ПОТРАПЛЯННЯ НА ШКІРУ: Промити великою кількістю води з милом.
- Спеціальне лікування, див. додаткову інформацію щодо надання першої допомоги.
- У разі подразнення шкіри: Звернутися за медичною консультацією або по допомогу
- Зняти забруднений одяг і випрати його перед повторним використанням.
- У РАЗІ ПОТРАПЛЯННЯ В ОЧІ: Обережно промити водою протягом кількох хвилин. Зняти контактні лінзи, якщо вони є та якщо це легко зробити. Продовжити промивання.
- Якщо подразнення очей не проходить: Звернутися за медичною консультацією або по допомогу
- У разі поганого самопочуття звернутися в ТОКСИКОЛОГІЧНИЙ ЦЕНТР або до лікаря-фахівця чи терапевта.

11 Збір, транспортування та зберігання зразка



Щоб отримати належно зібрані зразки, ретельно дотримуйтесь інструкцій, наведених у цьому розділі.

- Набирати кров у пробірки з антикоагулянтом ЕДТА або цитратом натрію повинні лише кваліфіковані фахівці, які пройшли навчання.
- Не центрифугувати та не концентрувати зразок крові за допомогою видалення плазми.
- Кров слід обробляти протягом 24 годин у разі зберігання за кімнатної температури (22–28 °С). Зразки потрібно зберігати за температури 2–8 °С у разі зберігання понад 24 години. Стабільність крові зберігається протягом не більше 15 днів у разі зберігання за температури 2–8 °С. Зразки крові також можна зберігати за температури –20 °С або –80 °С протягом періоду до 3 місяців. Рекомендується використовувати флакон для зберігання сумісний із морозильною камерою.

Примітка

Дочекайтесь, доки заморожена кров повністю не розтане за кімнатної температури. Не рекомендується заморожувати/розморожувати кров більше одного разу.

- Перед перенесенням в картридж перемішайте зразок, перевернувши його 5 разів

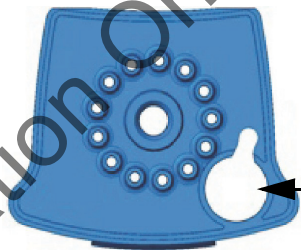
12 Процедура

12.1 Підготовка картриджа

Важливо Почніть тест протягом 15 хвилин після додавання зразка до картриджа.

Щоб додати зразок до картриджа:

1. Вийміть картридж із комплекту. Перед використанням необов'язково зрівнювати температуру картриджів із кімнатною.
2. Перемішайте зразок, перевернувши принаймні 5 разів, доки він не стане гомогенним.
3. Відкрийте кришку картриджа. За допомогою піпетки зі стійким до аерозолів наконечником перенесіть 50 мкл крові з антикоагулянтом цитратом натрію або ЕДТА до нижньої стінки отвору для зразків картриджа тесту Xpert Factor II & Factor V. Див. Рисунок 1.
4. Закрийте кришку картриджа.



Камера для зразка
(великий отвір)

Рисунок 1. Картридж Xpert Factor II & Factor V (вид зверху)

12.2 Запуск тесту

Важливо Перш ніж починати тест, переконайтеся, що файли з описом тестів Xpert FII, Xpert FV і Xpert FII & FV Combo імпортовано в програмне забезпечення. Файли з описом тестів знаходяться на компакт-диску, що входить до комплекту.

У цьому розділі перераховані основні етапи виконання тесту. Докладні інструкції наведено в Керівництві оператора системи GeneXpert Dx.

1. Увімкніть прилад GeneXpert Dx, а потім комп'ютер. Програмне забезпечення GeneXpert запуститься автоматично.
2. Увійдіть у програмне забезпечення GeneXpert Dx System, використовуючи своє ім'я користувача та пароль.
3. У вікні системи GeneXpert Dx клацніть **Створити аналіз (Создать анализ)**. З'явиться вікно «Створити аналіз» (Создать анализ).
4. Відскануйте штрих-код на картриджі.

- У вікні «ID зразка» (ID образца) введіть вручну ідентифікаційний номер зразка. Переконайтеся в правильності введеного вручну ідентифікаційного номера зразка. Можна також відсканувати штрих-код зразка. Ідентифікаційний номер зразка пов'язаний із результатами тесту та вказується у вікні «Переглянути результати» (Просмотреть результаты) і в усіх звітах.

Выбрать тест	Название	Версия
	Хpert FV	1
Выбрать модуль	Хpert FII & FV Combo	1
ID партии реактива	Хpert FII	1
Тип анализа	Хpert FV	1

Рисунок 2. Вікно «Створити аналіз» (Создать анализ)

- З розкритого меню «Вибрати тест» (Выбрать тест) виберіть відповідний тест для запуску.
- Клацніть Почати аналіз (Начать анализ). У діалоговому вікні, що з'явиться, введіть свій пароль.
- Відкрийте дверцята модуля приладу з миготливим зеленим індикатором і завантажте картридж.
- Закрийте дверцята. Потім тест починається й зелений індикатор перестає блимати. Після завершення тесту світловий індикатор вимикається.
- Коли система розблокує дверцята, відкрийте дверцята модуля та витягніть картридж.
- Використані картриджі слід викидати у відповідні контейнери для збору відходів зразків згідно зі стандартними правилами, прийнятими в установі.

13 Перегляд і друк результатів

Докладні інструкції щодо перегляду та друку результатів наведено в *Керівництві оператора системи GeneXpert Dx*.

Примітка

У разі повідомлення результатів за допомогою LIS, підтвердьте, що результати LIS відповідають системним результатам для цього ідентифікаційного номера пацієнта; якщо результати не співпадають, повідомляйте лише системні результати.

14 Контроль якості

CONTROL

Кожний тест містить контроль якості зондів (PCC).

Контроль якості зондів (PCC) — перед початком ПЛР системою GeneXpert вимірюється флуоресцентний сигнал від зондів для перевірки регідрації гранул, заповнення реакційної пробірки, цілісності зонда та стабільності барвника. Контроль якості зондів вважається пройденим, якщо його результат відповідає визначеним критеріям прийнятності.

Зовнішній контроль — NemosIL FII & FV DNA Control P/N 0020003500 розроблено та перевірено для програми зовнішнього контролю якості тесту Xpert FII & FV.

Крім того, зразки цільної крові з нормальними, гетерозиготними або гомозиготними формами фактора II/фактора V (цитрат натрію або ЕДТА як антикоагулянт) також можуть використовуватись для навчання, підтвердження кваліфікації і зовнішнього контролю якості тесту Xpert Factor II & Factor V. Потрібен матеріал на основі клітин. Не використовувати виділену ДНК. Якщо необхідно, зовнішній контроль можна використовувати відповідно до вимог місцевих, державних і федеральних організацій, що здійснюють акредитацію.

15 Інтерпретація результатів

Результати інтерпретуються системою GeneXpert Dx на підставі вимірювання флуоресцентних сигналів і вбудованих алгоритмів виявлення генотипів та відображаються в таких вікнах «Переглянути результати» (Просмотреть результаты):

Результат «НОРМАЛЬНИЙ (НОРМАЛЬНЫЙ)» відноситься до дикого типу (мутація не виявлена); результат «ГОМОЗИГОТНИЙ (ГОМОЗИГОТНЫЙ)» позначає 'гомозиготний мутант' (мутація, виявлена в обох алелях); результат «ГЕТЕРОЗИГОТНИЙ (ГЕТЕРОЗИГОТНЫЙ)» відноситься до 'гетерозиготного мутанта' (мутація, виявлена в одному алелі).

Результати Xpert FII, якщо з розкривного меню вибрано тип тесту FII, див. з Рисунок 3 по Рисунок 5.

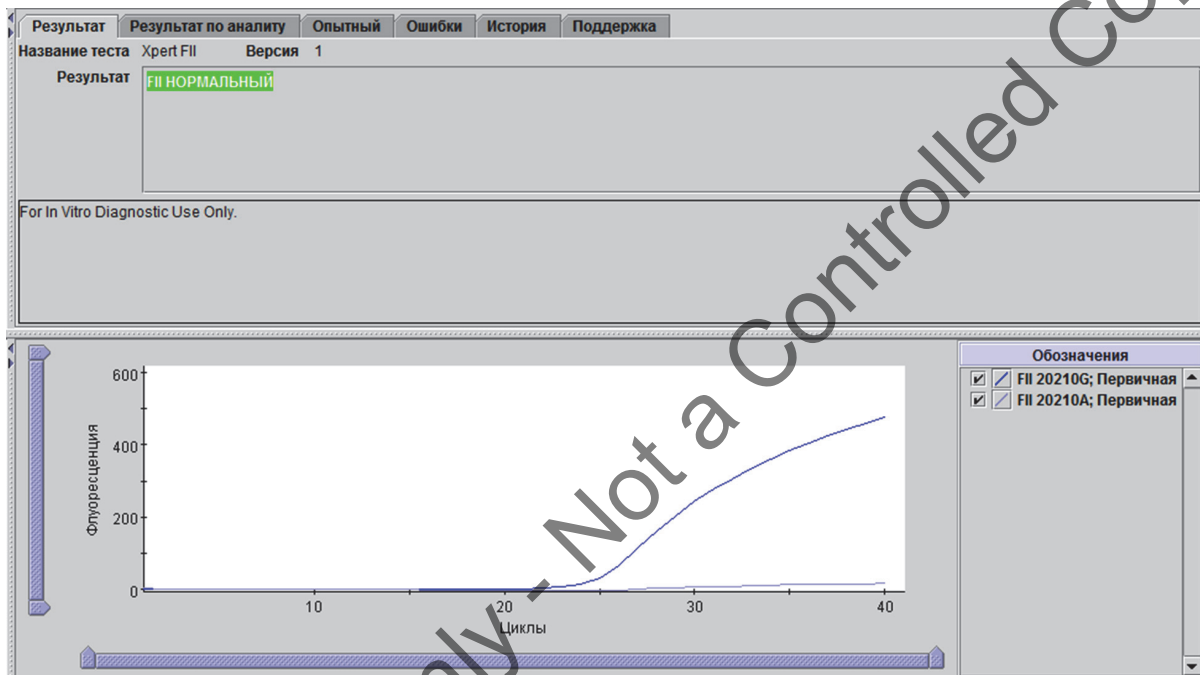


Рисунок 3. Система GeneXpert Dx — вікно «Переглянути результати» (Просмотреть результаты), результат для нормальної форми фактора II

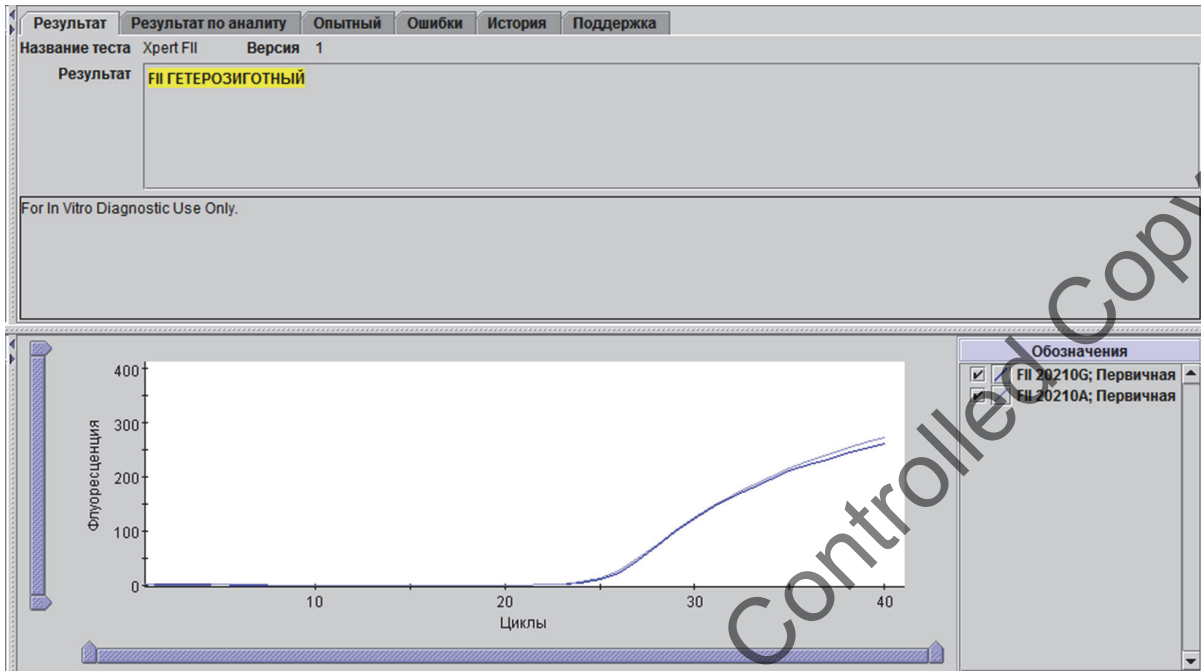


Рисунок 4. Система GeneXpert Dx — вікно «Переглянути результати» (Просмотреть результаты), результат для гетерозиготної форми фактора II

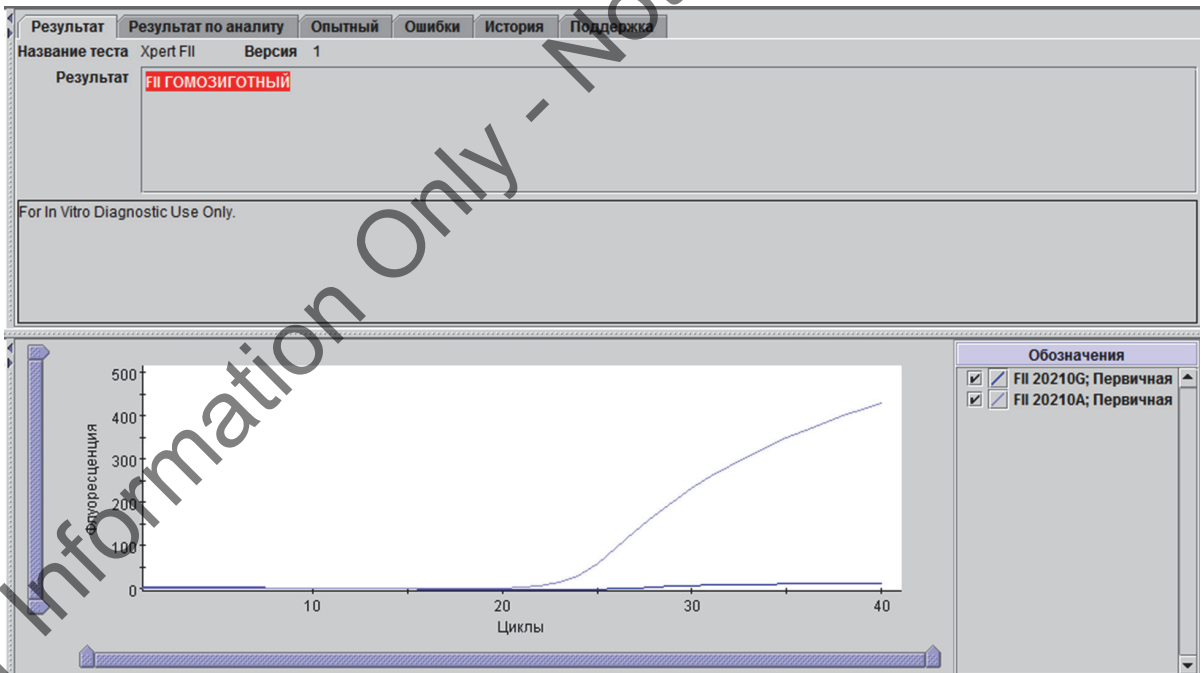


Рисунок 5. Система GeneXpert Dx — вікно «Переглянути результати» (Просмотреть результаты), результат для гомозиготної форми фактора II

Результаты Xpert FV, якщо з розкривного меню вибрано тип тесту FV, див. з Рисунок 6 по Рисунок 8.

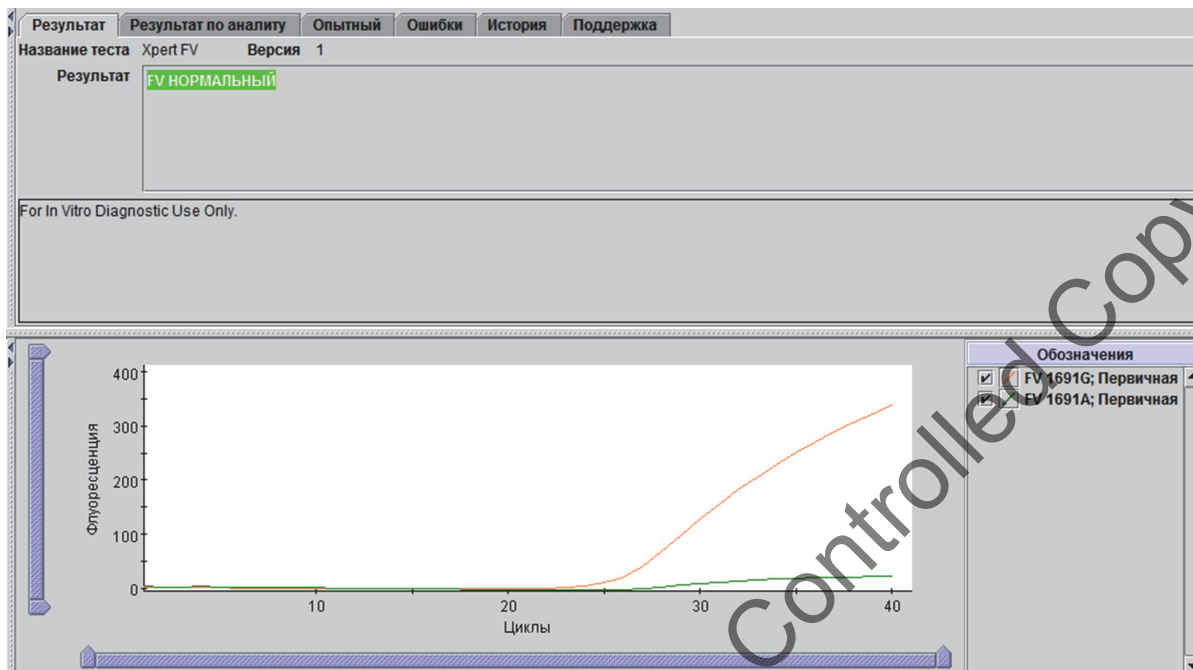


Рисунок 6. Система GeneXpert Dx — вікно «Переглянути результати» (Просмотреть результаты), результат для нормальной формы фактора V

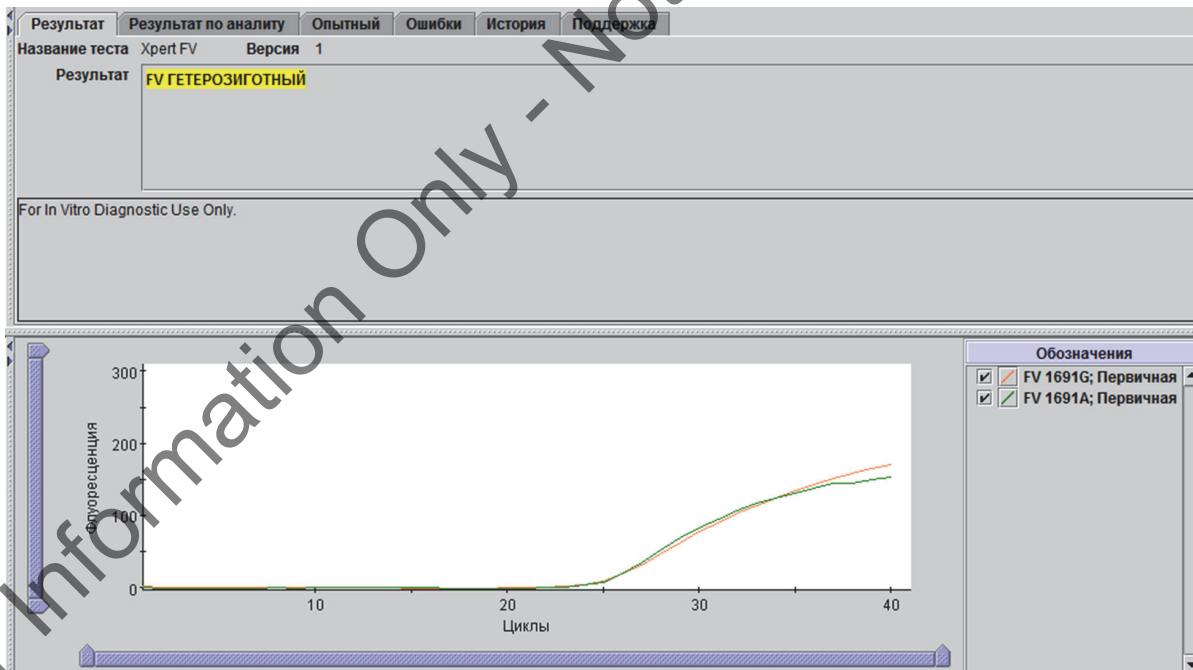


Рисунок 7. Система GeneXpert Dx — вікно «Переглянути результати» (Просмотреть результаты), результат для гетерозиготной формы фактора V

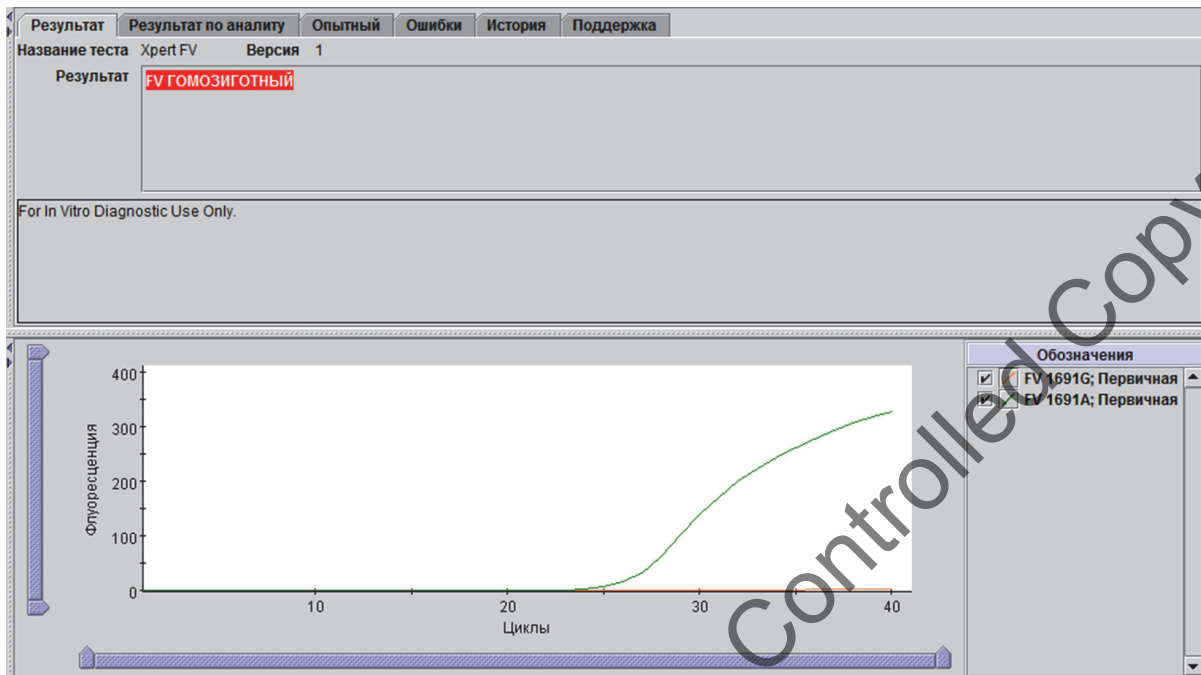


Рисунок 8. Система GeneXpert Dx — вікно «Переглянути результати» (Просмотреть результаты), результат для гомозиготної форми фактора V

Результаты Xpert FII і FV, якщо з розкривного меню вибрано тип тесту FII & FV Combo, див. з Рисунок 9 по Рисунок 11.

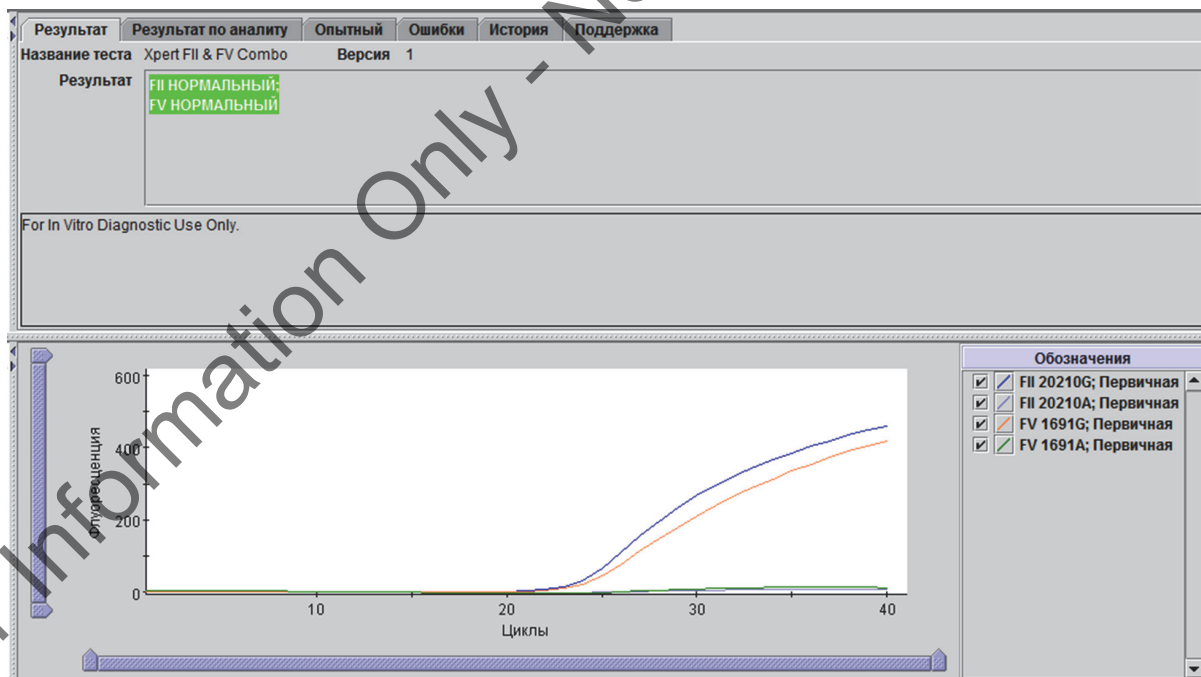


Рисунок 9. Система GeneXpert Dx — вікно «Переглянути результати» (Просмотреть результаты), результат для нормальної форми фактора II і фактора V

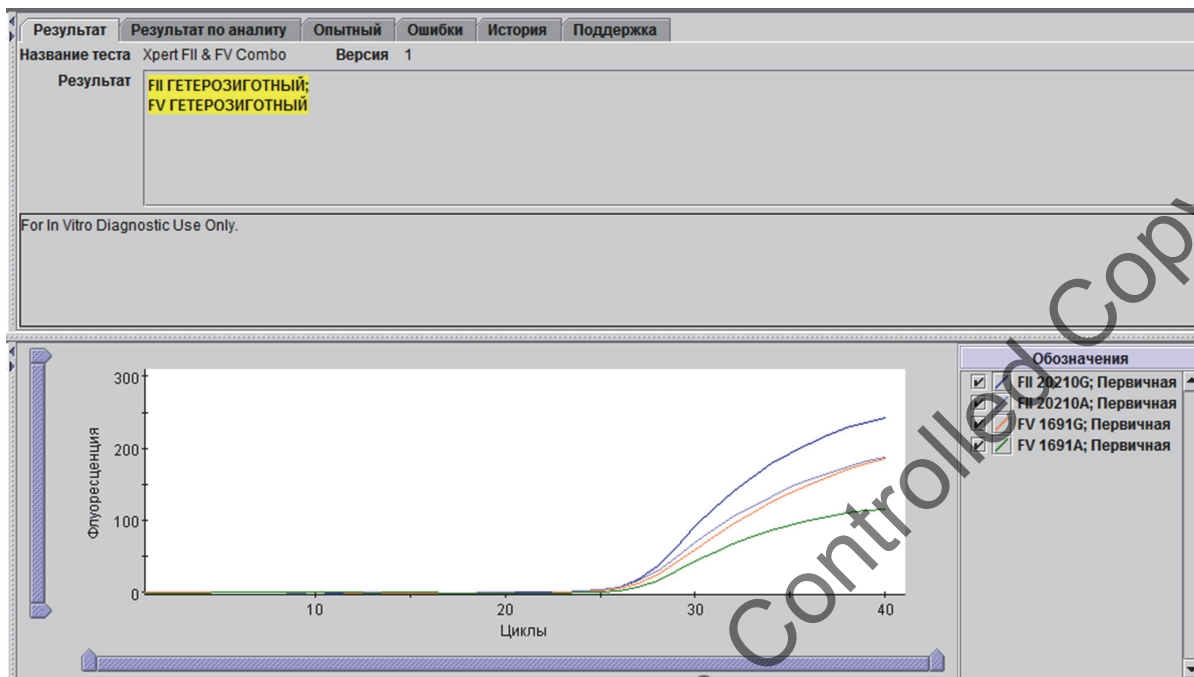


Рисунок 10. Система GeneXpert Dx — вікно «Переглянути результати» (Просмотреть результаты), результат для гетерозиготної форми фактора II і фактора V

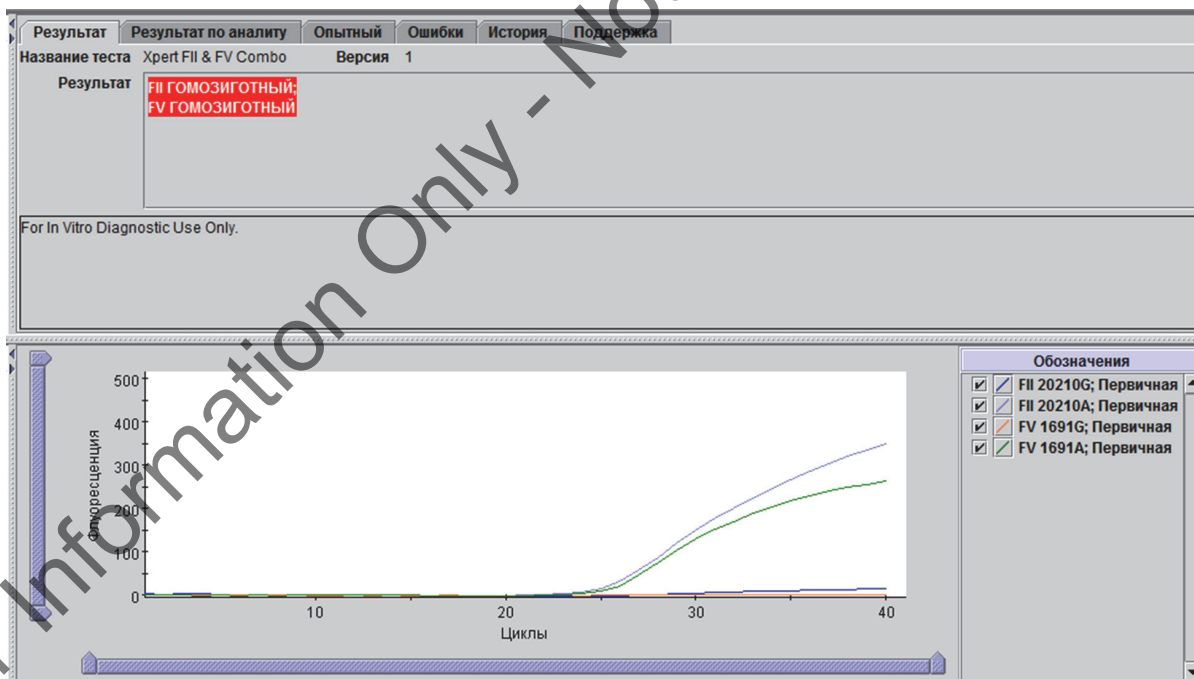


Рисунок 11. Система GeneXpert Dx — вікно «Переглянути результати» (Просмотреть результаты), результат для гомозиготної форми фактора II і фактора V

НЕДІЙСНИЙ (НЕДЕЙСТВИТЕЛЬНЫЙ)

Наявність або відсутність нормальних і мутантних алелей гена фактора II/фактора V не можливо визначити; повторіть аналіз згідно з інструкціями нижче. Зразок не оброблено належним чином, або ПЛР інгібовано.

- **НЕДІЙСНИЙ (НЕДЕЙСТВИТЕЛЬНЫЙ)** — наявність або відсутність нормальних і мутантних алелей гена фактора II/фактора V не можливо визначити.
- Контроль якості зондів — ПРОЙДЕНО (ПРОЙДЕН). Усі перевірки якості зондів пройдені.

ПОМИЛКА (ОШИБКА)

Наявність або відсутність нормальних і мутантних алелей гена фактора II/фактора V не можливо визначити; повторіть аналіз згідно з інструкціями нижче. Контроль якості зондів не пройдено, і виконання тесту перервано, можливо через неправильно заповнену реакційну пробірку або виявлену проблему цілісності зонда. Помилки також можуть бути зумовлені перевищенням максимальних меж тиску або збоєм компонента системи.

- **ПОМИЛКА (ОШИБКА)**
- Контроль якості зондів — НЕ ПРОЙДЕНО (НЕ ПРОЙДЕН)*; одну або декілька перевірок у межах контролю якості зондів не пройдено.

*Якщо перевірку якості зондів пройдено, помилка сталася через збій компонента системи.

НЕМАЄ РЕЗУЛЬТАТУ (НЕТ РЕЗУЛЬТАТА)

Наявність або відсутність нормальних і мутантних алелей гена фактора II/фактора V не можливо визначити; повторіть аналіз згідно з інструкціями нижче. Зібрано недостатньо даних, щоб отримати результат тесту (наприклад, це може відбутись, якщо оператор перервав поточний процес аналізу).

- **НЕМАЄ РЕЗУЛЬТАТУ (НЕТ РЕЗУЛЬТАТА)**
- Контроль якості зондів — NA (Неприменимо)

16 Причини повторного виконання тесту

Повторіть тест, використовуючи новий картридж (не використовуйте картридж повторно) та нову аліквоту цільної крові з антикоагулянтом цитратом натрію або ЕДТА:

- **НЕДІЙСНИЙ (НЕДЕЙСТВИТЕЛЬНЫЙ)** результат свідчить про те, що зразок не оброблено належним чином або інгібовано ПЛР.
- Результат як **ПОМИЛКА (ОШИБКА)** свідчить про те, що контроль якості зондів не пройдено, і виконання тесту перервано, можливо через неправильно заповнену реакційну пробірку або виявлену проблему цілісності реакційного зонда. Помилки також можуть бути зумовлені перевищенням максимальних меж тиску або збоєм компонента системи.
- Повідомлення **НЕМАЄ РЕЗУЛЬТАТУ (НЕТ РЕЗУЛЬТАТА)** свідчить про те, що зібрано недостатньо даних. Таке повідомлення може з'являтися, наприклад, якщо оператор перервав поточний процес аналізу.

17 Обмеження

- Функціональні характеристики тесту Xpert Factor II & Factor V валідовано за допомогою тільки процедур, наведених у цій інструкції-вкладиші. Модифікації цих процедур можуть змінити функціональні характеристики тесту. Результати тесту Xpert Factor II & Factor V слід інтерпретувати разом з іншими лабораторними та клінічними даними, доступними клініцисту.
- Рідкісні мутації фактора V (A1696G, G1689A і A1692C) та будь-які додаткові однонуклеотидні поліморфізми (single nucleotide polymorphisms, SNP) в області зв'язування зонда можуть перешкоджати виявленню цільової ділянки та призводити до отримання результату **НЕДІЙСНИЙ (НЕДЕЙСТВИТЕЛЬНЫЙ)**.
- Інші рідкісні мутації фактора II у зоні зв'язування зонда можуть перешкоджати виявленню цілі та можуть дати результат «**НЕДІЙСНИЙ (НЕДЕЙСТВИТЕЛЕН)**» або помилковий результат мутанта «**ГОМОЗИГОТНИЙ (ГОМОЗИГОТНЫЙ)**» при виникненні відповідно до мутації фактора II с.*97G>A (G20210A).
- Функціональні характеристики тесту Xpert Factor II & Factor V не оцінювали на зразках пацієнтів дитячого віку.
- Помилкові результати тестів можуть виникати через неправильний збір, поводження, зберігання або змішування зразків. Необхідно ретельно дотримуватись інструкцій, що знаходяться в цій упаковці, щоб уникнути помилкових результатів.

18 Речовини, які перешкоджають проведенню аналізу

Використання зразків крові пацієнтів, яким проводиться терапія гепарином та переливання крові, може впливати на результати ПЛР і призводити до отримання недійсних чи помилкових результатів.

Дослідження речовин, які можуть перешкоджати проведенню аналізу, продемонстрували відсутність інгібування гепарином у дозі до 14,3 одиниць Фармакопеї США/мл, білірубіном у концентрації 16 мг/дл, додатковим холестерином у концентрації 250 мг/дл або загальними тригліцидами (ліпідами) у концентрації 1932 мг/дл. Жодного інгібування не спостерігалось у разі використання зразків цільної крові, що пройшли один цикл заморожування й розморожування (гемолізована кров). Статистичної значимої різниці при зіставленні зразків з ЕДТА або цитратом натрію не спостерігалось.

19 Очікувані значення

Мутації фактора II (G20210A) і фактора V Лейдена (G1691A) присутні у відповідно 2 % і 5 % населення в цілому⁶.

20 Функціональні характеристики

20.1 Клінічні характеристики

Функціональні характеристики тесту Хpert Factor II & Factor V визначались під час багаточетрового експериментального дослідження в семи установах за допомогою порівняння тесту Хpert Factor II & Factor V з двоонаправленим секвенуванням.

Зразки включали такі, які застосовуються у звичайній медичній практиці при отриманні цільної крові для аналізу на фактор II і/або фактор V. Спочатку зразки досліджували стандартними методами, що застосовувалися в кожній лабораторії-учасниці, а потім зібрані для проведення дослідження аліквоти вивчалися за допомогою тесту Хpert Factor II & Factor V на приладі GeneХpert. Надлишкову ДНК надсилали до контрактної лабораторії для проведення двоонаправленого секвенування.

Функціональні характеристики тесту Хpert Factor II & Factor V розраховували порівняно з результатами двоонаправленого секвенування.

20.2 Загальні результати

Тест Хpert Factor II & Factor V

Усього аналіз на фактор II було проведено на 1018 зразках із використанням як тесту Хpert Factor II & Factor V, так і двоонаправленого секвенування. Усього аналіз на фактор V було проведено на 1014 зразках із використанням як тесту Хpert Factor II & Factor V, так і двоонаправленого секвенування. Для доповнення обсягу вибірки гомозиготних зразків також за допомогою тесту Хpert Factor II & Factor V та двоонаправленого секвенування було досліджено шість зразків геномних ДНК людини, гомозиготних щодо фактора II, та п'ять зразків, гомозиготних щодо фактора V. Результати наведено в Таблиці 1.

Тест Хpert Factor II & Factor V продемонстрував загальну точність 99,3 % порівняно з двоонаправленим секвенуванням як для фактора II, так і для фактора V.

Таблиця 1. Функціональні характеристики тесту Xpert Factor II & Factor V порівняно з двоонаправленим секвенуванням

Генотип	Досліджена кількість	Кількість правильних результатів під час першої серії аналізів	Кількість недійсних ^a результатів під час першої серії аналізів	Узгодженість під час виконання першої серії аналізів	Кількість правильних результатів, включно з повторними серіями аналізів	Кількість недійсних ^a результатів під час повторної серії аналізів	Узгодженість після повторної серії аналізів
Фактор II G20210A							
WT ^d	968	927	41	95,8 %	963	5	99,5 %
НЕТ	50	48	2	96,0 %	48	2	96,0 %
НОМ	7	7	0	100,0 %	7	0	100 %
Загалом	1025 ^b	982	43	95,8 %	1018	7	99,3 %
Фактор V G1691A							
WT	895	860	35	96,1 %	889	6	99,3 %
НЕТ	114	108	6	94,7 %	113	1	99,1 %
НОМ	12	11	1	91,7 %	12	0	100,0 %
Загалом	1021 ^c	979	42	95,9 %	1014	7	99,3 %

- a. Жодних неузгоджених результатів. Недійсні результати вважаються «сумнівними» результатами
b. Результати двоонаправленого секвенування фактора II не були доступні для 4 зразків.
c. Результати двоонаправленого секвенування фактора V не були доступні для 8 зразків.
d. WT (дикий тип) є нормальним

Аналітична специфічність

Для оцінювання аналітичної специфічності тесту Xpert Factor II & Factor V синтезували нормальні послідовності генів, які містили «мовчазні» одонуклеотидні поліморфізми (SNP) в області зв'язування зонда, а також поза областю зв'язування зонда. Наявність додаткового SNP в області зв'язування зонда здебільшого призводила до отримання недійсних результатів. У разі отримання достовірного результату він показував правильний генотип.

Наявність додаткового SNP за межами області зв'язування зонда призводила до отримання правильного результату генотипування.

Аналітична чутливість

Проведено дослідження для визначення мінімальної та максимальної кількості вхідних зразків цільної крові з антикоагулянтом цитратом натрію та ЕДТА, яка необхідна для отримання в пацієнта правильного генотипу, такого, щоб нижня межа 95 % довірчого інтервалу очікуваних «правильних результатів» становила понад 95 %.

Зразки крові з антикоагулянтом ЕДТА та цитратом натрію аналізували (n = 20) у 8 об'ємах (від 5 мкл до 250 мкл).

Хоча тест допускає використання різних об'ємів від 15 мкл до 100 мкл, рекомендований об'єм зразка становить 50 мкл, за таких умов ризик помилок, пов'язаних з нестачею або надлишком зразка, є мінімальним.

Відтворюваність

Два різні оператора протягом 5 різних днів у кожному з трьох дослідницьких центрів аналізували у двох повторах панель із 5 зразків, до складу якої входили по одному з кожного типу зразків, зазначених нижче (3 зразка x 2 рази на добу x 2 оператори в кожному дослідницькому центрі x 5 днів x 3 дослідницьких центра). Одна партія тесту Xpert Комплект тесту Factor II & Factor V використовували в кожному з 3 дослідницьких центрів. Тест Xpert Factor II & Factor V виконували відповідно до процедури Xpert Factor II & Factor V. Результати узагальнюються з Таблиці 2 по Таблицю 5.

Досліджувана панель:

1. зразок з нормальними (дикого типу) алелями фактора II і фактора V;
2. зразок із гетерозиготною формою мутації фактора II (тобто, один мутантний і один алель дикого типу гена фактора II) і з нормальними (дикого типу) алелями фактора V;
3. зразок із гомозиготною формою мутації фактора II (тобто, два мутантні алелі гена фактора II) і з нормальними (дикого типу) алелями фактора V;

4. зразок із нормальними (дикого типу) алелями фактора II і з гомозиготною формою мутації гена фактора V (тобто, два мутантних алеля гена фактора V);
5. зразок із нормальними (дикого типу) алелями фактора II і з гетерозиготною формою мутації гена фактора V (тобто, один мутантний і один алель дикого типу гена фактора V).

Короткі відомості щодо результатів залежно від дослідницького центру наведено в Таблиці 2 і Таблиці 3. Статистично значущої різниці в результатах різних дослідницьких центрів не спостерігалось ні для фактора II ($p = 1,000$), ні для фактора V ($p = 1,000$).

Таблиця 2. Короткі відомості щодо результатів відтворюваності залежно від дослідницького центру — фактор II

Ідентифікаційний номер зразка	Дослідницький центр 1	Дослідницький центр 2	Дослідницький центр 3	% загальної узгодженості за зразком
NOR	100 % (20/20)	100 % (20/20)	100 % (20/20)	100 % (60/60)
Фактор II НЕТ/Фактор V NOR	100 % (20/20)	100 % (20/20)	100 % (20/20)	100 % (60/60)
Фактор II НОМ/Фактор V NOR	100 % (20/20)	100 % (20/20)	100 % (20/20)	100 % (60/60)
Фактор II NOR/Фактор V НОМ	100 % (20/20)	100 % (20/20)	100 % (20/20)	100 % (60/60)
Фактор II NOR/Фактор V НЕТ	100 % (20/20)	100 % (20/20)	95,0 % (19/20) ^a	98,3 % (59/60) ^a
% загальної узгодженості за дослідницьким центром	100 % (60/60)	100 % (60/60)	98,3 % (59/60) ^a	99,7 % (299/300) ^a

а. Жодних неузгоджених результатів. Для одного зразка отримано сумнівний результат після повторного аналізу.

Таблиця 3. Короткі відомості щодо результатів відтворюваності залежно від дослідницького центру — фактор V

Ідентифікаційний номер зразка	Дослідницький центр 1	Дослідницький центр 2	Дослідницький центр 3	% загальної узгодженості за зразком
NOR	100 % (20/20)	100 % (20/20)	100 % (20/20)	100 % (60/60)
Фактор II НЕТ/Фактор V NOR	100 % (20/20)	100 % (20/20)	100 % (20/20)	100 % (60/60)
Фактор II НОМ/Фактор V NOR	100 % (20/20)	100 % (20/20)	100 % (20/20)	100 % (60/60)
Фактор II NOR/Фактор V НОМ	100 % (20/20)	100 % (20/20)	100 % (20/20)	100 % (60/60)
Фактор II NOR/Фактор V НЕТ	100 % (20/20)	100 % (20/20)	95,0 % (19/20) ^a	98,3 % (59/60) ^a
% загальної узгодженості за дослідницьким центром	100 % (60/60)	100 % (60/60)	98,3 % (59/60) ^a	99,7 % (299/300) ^a

а. Жодних неузгоджених результатів. Для одного зразка отримано сумнівний результат після повторного аналізу.

Короткі відомості щодо результатів залежно від оператора наведено в Таблиці 4 і Таблиці 5. Статистично значущої різниці в результатах різних дослідницьких центрів не спостерігалось ні для фактора II ($p = 1,000$), ні для фактора V ($p = 1,000$).

Таблиця 4. Короткі відомості щодо результатів відтворюваності залежно від оператора — фактор II

Ідентифікаційний номер зразка	Дослідницький центр 1		Дослідницький центр 2		Дослідницький центр 3		% загальної узгодженості за зразком
	Опер. 1	Опер. 2	Опер. 1	Опер. 2	Опер. 1	Опер. 2	
NOR	100 % (10/10)	100 % (10/10)	100 % (10/10)	100 % (10/10)	100 % (10/10)	100 % (10/10)	100 % (60/60)
Фактор II HET/ Фактор V NOR	100 % (10/10)	100 % (10/10)	100 % (10/10)	100 % (10/10)	100 % (10/10)	100 % (10/10)	100 % (60/60)
Фактор II HOM/ Фактор V NOR	100 % (10/10)	100 % (10/10)	100 % (10/10)	100 % (10/10)	100 % (10/10)	100 % (10/10)	100 % (60/60)
Фактор II NOR/ Фактор V HOM	100 % (10/10)	100 % (10/10)	100 % (10/10)	100 % (10/10)	100 % (10/10)	100 % (10/10)	100 % (60/60)
Фактор II NOR/ Фактор 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
% загальної узгодженості за оператором	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

а. Жодних неузгоджених результатів. Для одного зразка отримано сумнівний результат після повторного аналізу.

Таблиця 5. Короткі відомості щодо результатів відтворюваності залежно від оператора — фактор V

Ідентифікаційний номер зразка	Дослідницький центр 1		Дослідницький центр 2		Дослідницький центр 3		% загальної узгодженості за зразком
	Опер. 1	Опер. 2	Опер. 1	Опер. 2	Опер. 1	Опер. 2	
NOR	100 % (10/10)	100 % (10/10)	100 % (10/10)	100 % (10/10)	100 % (10/10)	100 % (10/10)	100 % (60/60)
Фактор II HET/ Фактор V NOR	100 % (10/10)	100 % (10/10)	100 % (10/10)	100 % (10/10)	100 % (10/10)	100 % (10/10)	100 % (60/60)
Фактор II HOM/ Фактор V NOR	100 % (10/10)	100 % (10/10)	100 % (10/10)	100 % (10/10)	100 % (10/10)	100 % (10/10)	100 % (60/60)
Фактор II NOR/ Фактор V HOM	100 % (10/10)	100 % (10/10)	100 % (10/10)	100 % (10/10)	100 % (10/10)	100 % (10/10)	100 % (60/60)
Фактор II NOR/ Фактор 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
% загальної узгодженості за оператором	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

а. Жодних неузгоджених результатів. Для одного зразка отримано сумнівний результат після повторного аналізу.

Щоб оцінити відтворюваність для партій тесту, два рази на добу протягом 5 днів проводився аналіз описаної вище панелі з 5 зразків із використанням кожної з трьох партій тесту в одному дослідницькому центрі (5 зразків x 2 серії аналізів на добу x 3 партії x 5 днів). Короткі відомості щодо результатів залежно від партії наведено в Таблиці 6 і Таблиці 7. Статистично значущої різниці в результатах різних партій не спостерігалось ні для фактора II ($p = 1,000$), ні для фактора V ($p = 1,000$).

Таблиця 6. Короткі відомості щодо результатів відтворюваності залежно від партії — фактор II

Ідентифікаційний номер зразка	Партія 1	Партія 2	Партія 3	% загальної узгодженості за зразком
NOR	100 % (10/10)	100 % (10/10)	100 % (10/10)	100 % (30/30)
Фактор II HET/Фактор V NOR	100 % (10/10)	100 % (10/10)	100 % (10/10)	100 % (30/30)
Фактор II HOM/Фактор V NOR	100 % (10/10)	100 % (10/10)	100 % (10/10)	100 % (30/30)
Фактор II NOR/Фактор V HOM	100 % (10/10)	100 % (10/10)	100 % (10/10)	100 % (30/30)
Фактор II NOR/Фактор V HET	100 % (10/10)	100 % (10/10)	100 % (10/10)	100 % (30/30)
% загальної узгодженості за партією	100 % (50/50)	100 % (50/50)	100 % (50/50)	100 % (150/150)

Таблиця 7. Короткі відомості щодо результатів відтворюваності залежно від партії — фактор V

Ідентифікаційний номер зразка	Партія 1	Партія 2	Партія 3	% загальної узгодженості за зразком
NOR	100 % (10/10)	100 % (10/10)	100 % (10/10)	100 % (30/30)
Фактор II HET/Фактор V NOR	100 % (10/10)	100 % (10/10)	100 % (10/10)	100 % (30/30)
Фактор II HOM/Фактор V NOR	100 % (10/10)	100 % (10/10)	100 % (10/10)	100 % (30/30)
Фактор II NOR/Фактор V HOM	100 % (10/10)	100 % (10/10)	100 % (10/10)	100 % (30/30)
Фактор II NOR/Фактор V HET	100 % (10/10)	100 % (10/10)	100 % (10/10)	100 % (30/30)
% загальної узгодженості за партією	100 % (50/50)	100 % (50/50)	100 % (50/50)	100 % (150/150)

21 Довідкова література

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 Розташування штаб-квартир корпорації Serheid

Корпоративна штаб-квартира

Serheid
904 Caribbean Drive
Sunnyvale, CA 94089
Сполучені Штати Америки
Телефон: + 1 408 541 4191
Факс: + 1 408 541 4192
www.cepheid.com

Європейська штаб-квартира

Serheid Europe SAS
Vira Solelh
81470 Maurens-Scopont
Франція
Телефон: + 33 563 825 300
Факс: + 33 563 825 301
www.cepheidinternational.com

23 Технічна підтримка

Перш ніж звертатися в службу технічної підтримки корпорації Serheid, підготуйте таку інформацію:

- назва продукту;
- номер партії;
- серійний номер приладу;
- повідомлення про помилки (якщо є);
- версія програмного забезпечення та, якщо застосовно, сервісний номер комп'ютера















Контактна інформація

Сполучені Штати Америки
Телефон: + 1 888 838 3222
Ел. пошта: techsupport@cepheid.com

Франція
Телефон: + 33 563 825 319
Ел. пошта: support@cepheideurope.com

Контактна інформація усіх відділів служби технічної підтримки компанії Serheid вказана на нашому веб-сайті:
www.cepheid.com/en/CustomerSupport.

24 Умовні позначення

Символ	Значення
	Номер за каталогом
	Діагностичне медичне обладнання для використання <i>in vitro</i>
	Не використовувати повторно
	Код серії
	Ознайомитися з інструкціями з використання
	Увага!
	Виробник
	Країна виробник
	Вмісту достатньо для проведення <n> аналізів
	Контроль
	Термін придатності
	Маркування CE – відповідність нормам ЄС
	Температурні обмеження
	Біологічна небезпека



Cepheid
 904 Caribbean Drive
 Sunnyvale, CA 94089
 USA (США)
 Телефон: + 1 408 541 4191
 Факс: + 1 408 541 4192



Cepheid Europe SAS
 Vira Solelh
 81470 Maurens-Scopont
 Франція
 Телефон: + 33 563 825 300
 Факс: + 33 563 825 301



For Information Only - Not a Controlled Copy