

# Xpert<sup>®</sup> Factor II & Factor V

**REF** GXFIIFV-10

Instruções de utilização

CE **IVD**

**Declarações relativas a marcas comerciais, patentes e copyright**

Cepheid<sup>®</sup>, the Cepheid logo, GeneXpert<sup>®</sup>, and Xpert<sup>®</sup> 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<sup>®</sup>, o logótipo da Cepheid, GeneXpert<sup>®</sup>, e Xpert<sup>®</sup> são marcas comerciais da Cepheid, registadas nos EUA e noutros países.

Todas as restantes marcas comerciais pertencem aos respetivos proprietários.

A AQUISIÇÃO DESTE PRODUTO ATRIBUI AO COMPRADOR O DIREITO NÃO TRANSFERÍVEL DE O UTILIZAR DE ACORDO COM ESTAS INSTRUÇÕES DE UTILIZAÇÃO. NENHUNS OUTROS DIREITOS SÃO ATRIBUÍDOS EXPRESSAMENTE, POR IMPLICAÇÃO OU POR PRECLUSÃO. ALÉM DISSO, NÃO SE CONFEREM NENHUNS DIREITOS DE REVENDA COM A AQUISIÇÃO DESTE PRODUTO.

© 2012–2024 Cepheid.

Consulte uma descrição das alterações em Histórico de revisões, na Secção 25 .

# Xpert<sup>®</sup> Factor II & Factor V

---

Para utilização em diagnóstico *in vitro*.

## 1 Nome Proprietário

Xpert<sup>®</sup> FII & FV

## 2 Nome comum ou usual

Xpert Factor II & Factor V

## 3 Utilização prevista

O teste Xpert<sup>®</sup> FII & FV é um teste de genotipagem qualitativo para diagnóstico *in vitro* destinado à detecção de alelos do Fator II e Fator V em sangue total com anticoagulante citrato de sódio ou EDTA. O teste é realizado no GeneXpert<sup>®</sup> Instrument Systems da Cepheid. Este teste destina-se a apresentar resultados para as mutações do Fator II (G20210A) e Fator V de Leiden (G1691A) para auxiliar no diagnóstico de pessoas com suspeita de trombofilia.

## 4 Resumo e explicação

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

O Fator V c.1601G>A (p.Arg534Gln) era anteriormente designado por G1691A ou Arg506Gln e é frequentemente referido como Fator V Leiden ou FVL<sup>5</sup>, ou, tal como no teste Xpert Factor II & Factor V, como Fator V (G1691A). O Fator V Leiden (G1691A) refere-se à transição de G para A na posição do nucleótido 1691 do gene do Fator V, resultando na substituição do aminoácido arginina por glutamina na proteína do Fator V, causando resistência à clivagem pela Proteína C ativada (APC).

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

## 5 Princípio do Procedimento

O sistema GeneXpert automatiza e integra purificação de amostras, amplificação de ácidos nucleicos e detecção da sequência-alvo em sangue total utilizando testes de reação em cadeia da polimerase (PCR) em tempo real. O sistema é constituído por um instrumento que integra computadores e leitores de códigos de barras, e tem software pré-instalado para execução de testes e visualização dos resultados. O sistema requer a utilização de cartuchos descartáveis, de utilização única, que contêm os reagentes de PCR e onde decorre esse processo. Dado que os cartuchos são independentes, a contaminação cruzada entre amostras é eliminada. Para uma descrição completa do sistema, consulte o manual do utilizador do sistema relevante.

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

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

## 6 Reagentes

### 6.1 Materiais fornecidos

O kit to teste Xpert Factor II & Factor V contém reagentes suficientes para processar 10 amostras ou amostras de controlo de qualidade.

O kit contém o seguinte:

<b>Cartuchos do teste Xpert Factor II &amp; Factor V com tubos de reação integrados</b>	<b>10</b>
<b>Esfera 1 e Esfera 2 (liofilizadas)</b>	<b>1 de cada por cartucho</b>
<b>Reagente 1</b>	<b>3,0 ml por cartucho</b>
<b>Reagente 2 (Hidrocloreto de guanidina)</b>	<b>3,0 ml por cartucho</b>
<b>CD</b>	<b>1 por kit</b>

- Ficheiros de definição do teste (Assay Definition Files, ADF)
- Instruções para importar o ADF para o software GeneXpert
- Instruções de utilização (folheto informativo)

---

**Nota** As fichas de dados de segurança (FDS) estão disponíveis em [www.cepheid.com](http://www.cepheid.com) ou [www.cepheidinternational.com](http://www.cepheidinternational.com) no separador **ASSISTÊNCIA (SUPPORT)**.

---

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

---

## 7 Conservação e manuseamento

- Conserve os cartuchos do teste Xpert Factor II & Factor V entre 2 °C e 28 °C.
- Não utilize cartuchos fora do prazo de validade.
- Não abra um cartucho até estar pronto para realizar o teste.
- Utilize o cartucho e os reagentes dentro de 30 minutos após a abertura da tampa do cartucho.

## 8 Materiais necessários, mas não fornecidos

- GeneXpert Dx System ou GeneXpert Infinity System (o número de catálogo varia consoante a configuração): Instrumento GeneXpert, computador, leitor de códigos de barras e manual do utilizador.

---

**Nota** O número de catálogo GeneXpert Instrument System varia consoante a configuração. Contacte a Cepheid para obter a configuração desejada e o número de catálogo correspondente.


---

- GeneXpert Dx System: Versão de software 4.0 ou posterior. Sistema GeneXpert Infinity com software Xpertise, versão 6.6 ou posterior
- Pipeta com pontas com filtro resistentes a aerossóis para dispensar 50 µl de sangue com anticoagulante citrato de sódio ou EDTA.

## 9 Advertências e precauções

- Trate todas as amostras biológicas, incluindo os cartuchos usados, como sendo capazes de transmitir agentes infecciosos. Dado que é frequentemente impossível saber quais as amostras biológicas que poderão ser infecciosas, devem ser todas tratadas com as precauções predefinidas. As orientações para o manuseamento de amostras estão disponíveis nos Centers for Disease Control and Prevention (Centros de Controlo e Prevenção de Doenças) dos EUA<sup>7</sup> e no Clinical and Laboratory Standards Institute (Instituto de Normas Clínicas e Laboratoriais)<sup>8</sup>.
- Siga os procedimentos de segurança da sua instituição quando trabalhar com produtos químicos e manusear amostras biológicas.
- Use os cartuchos antes do fim do prazo de validade indicado no kit.
- Não abra a tampa do cartucho do teste Xpert Factor II & Factor V, exceto quando adicionar a amostra.
- Não utilize um cartucho que tenha caído ou sido agitado depois de ter adicionado a amostra.
- Não utilize um cartucho que tenha um tubo de reação danificado (p. ex., dobrado ou partido).
- Cada cartucho de uso único do teste Xpert Factor II & Factor V é utilizado para processar um teste. Não reutilize cartuchos gastos.
- As amostras biológicas, dispositivos de transferência e cartuchos usados devem ser considerados como tendo potencial de transmissão de agentes infecciosos que exigem precauções padrão. Siga os procedimentos relativos a resíduos ambientais da sua instituição relativamente à eliminação correta de cartuchos usados e reagentes não usados. Estes materiais podem apresentar características de resíduos químicos perigosos que exigem procedimentos de eliminação nacionais ou regionais específicos. Se as regulamentações nacionais ou regionais não disponibilizarem uma indicação clara sobre a eliminação correta, as amostras biológicas e os cartuchos usados devem ser eliminados de acordo com as diretrizes relativas ao manuseamento e à eliminação de resíduos médicos da OMS (Organização Mundial da Saúde).
- Conserve o kit do teste Xpert Factor II & Factor V entre 2 °C e 28 °C.
- Não abra a tampa do cartucho até estar pronto para realizar o teste.
- Se ocorrer um aumento de pressão interna no cartucho, acima do limite predeterminado pelo fabricante, a execução será abortada automaticamente e notificado um resultado de **ERROR (ERRO)**.

## 10 Riscos químicos<sup>9,10</sup>

- Pictograma de perigo GHS da ONU: 
- Palavra-sinal: ATENÇÃO
- **Advertências de perigo GHS da ONU**
  - Pode ser nocivo por ingestão
  - Provoca irritação cutânea
  - Provoca irritação ocular grave
- **Recomendações de prudência GHS da ONU**
  - **Prevenção**
    - Lavar cuidadosamente após manuseamento.
    - Usar luvas de proteção/vestuário de proteção/proteção ocular/proteção facial
  - **Resposta**
    - SE ENTRAR EM CONTACTO COM A PELE: Lavar com sabonete e água abundantes.
    - Tratamento específico (ver informações suplementares de primeiros-socorros no presente rótulo).
    - Em caso de irritação cutânea: Consulte um médico
    - Retirar a roupa contaminada e lavá-la antes de a voltar a usar.
    - SE ENTRAR EM CONTACTO COM OS OLHOS: Enxaguar cuidadosamente com água durante vários minutos. Se usar lentes de contacto, retire-as, se tal lhe for possível. Continue a enxaguar.
    - Caso a irritação ocular persista: Consulte um médico
    - Caso sinta indisposição, contacte um CENTRO DE INFORMAÇÃO ANTIVENENOS ou um médico.

## 11 Colheita, transporte e conservação de amostras

Para obter uma amostra adequada, siga fielmente as instruções desta secção.

- Apenas profissionais treinados e habilitados devem colher sangue em tubos anticoagulantes com EDTA ou citrato de sódio.
- Não centrifugue nem concentre a amostra de sangue através de remoção do plasma.
- O sangue deve ser processado num período de 24 horas quando conservado à temperatura ambiente (entre 22 °C e 28 °C). As amostras devem ser conservadas entre 2 °C e 8 °C no caso de períodos superiores a 24 horas. O sangue é estável até 15 dias, desde que conservado entre 2 °C e 8 °C. As amostras de sangue também podem ser conservadas a -20 °C ou -80 °C, até 3 meses. Recomenda-se a utilização de um frasco de conservação compatível com um congelador.

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

---

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

## 12 Procedimento

### 12.1 Preparação do Cartucho

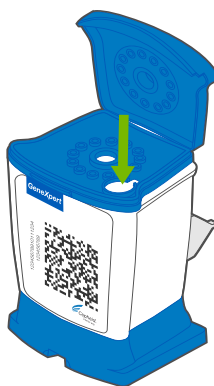
---

**Importante** Iniciar o teste dentro de 15 minutos após a adição da amostra ao cartucho.

---

Para adicionar a amostra ao cartucho:

1. Remova o cartucho do kit. Não é necessário que o cartucho esteja à temperatura ambiente antes de utilizar.
2. Misture a amostra invertendo o tubo pelo menos 5 vezes até ficar homogênea.
3. Abra a tampa do cartucho. Utilizando uma pipeta com uma ponta resistente a aerossóis, transfira 50 µl de sangue anticoagulado com citrato de sódio ou EDTA para a parede do fundo da câmara da amostra do cartucho do teste Xpert Factor II & Factor V. Ver Figura 1.
4. Fechar a tampa do cartucho.



**Figura 1. Cartucho do Xpert Factor II & Factor V**

## 13 Execução do teste

- Para o GeneXpert Dx System, consulte Secção 13.1 .
- Para o GeneXpert Infinity System, consulte Secção 13.2 .

### 13.1 GeneXpert Dx System

#### 13.1.1 Selecionar o teste

No menu pendente **Selecionar ensaio (Select Assay)**, escolha o teste adequado a executar.

	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. Janela Criar teste (Create Test)

#### 13.1.2 Iniciar o teste

Antes de iniciar o teste, certifique-se de que:

- Importante**
- O sistema está a funcionar com a versão do software GeneXpert Dx correta mostrada na secção Materiais necessários mas não fornecidos.
  - O ficheiro de definição do teste correto foi importado para o software.

Esta secção indica as etapas básicas para a execução do teste. Para obter instruções detalhadas, consulte *GeneXpert Dx System Operator Manual*.

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

1. Ligue o GeneXpert Dx System e depois ligue o computador e inicie sessão. O software GeneXpert arranca automaticamente. Se não arrancar, faça duplo clique no ícone de atalho do software GeneXpert Dx no ambiente de trabalho do Windows®.
2. Inicie sessão com o seu nome de utilizador e palavra-passe.
3. Na janela do **sistema GeneXpert**, clique em **Criar teste (Create Test)**. É apresentada a janela **Criar teste (Create Test)**. Abre-se a caixa de diálogo **Ler código de barras da ID do doente (Scan Patient ID barcode)**.
4. Leia ou introduza a ID do doente (Patient ID). Se digitar a ID do doente (Patient ID), assegure-se de que digita a ID do doente correta.

A ID do doente (Patient ID) é associada aos resultados do teste e é apresentada na janela **Ver resultados (View Results)** e em todos os relatórios. Abre-se a caixa de diálogo **Ler código de barras da ID da amostra (Scan Sample ID barcode)**.

5. Leia ou introduza a ID da amostra (Sample ID). Se digitar a ID da amostra (Sample ID), assegure-se de que digita a ID da amostra correta.  
A ID da amostra é associada aos resultados do teste e é apresentada na janela **Ver resultados (View Results)** e em todos os relatórios. Abre-se a caixa de diálogo **Ler código de barras do cartucho (Scan Cartridge Barcode)**.
6. Leia o código de barras do cartucho. Utilizando a informação do código de barras, o software preenche automaticamente as caixas para os seguintes campos: Selecionar teste (Select Assay), ID lote de reagente (Reagent Lot ID), N/S do cartucho (Cartridge SN) e Prazo de validade (Expiration Date).

**Nota**

Se o código de barras no cartucho não puder ser lido digitalmente, repita o teste com um novo cartucho. Se tiver lido o código de barras do cartucho no software e o ficheiro de definição do teste não estiver disponível, será apresentado um ecrã a indicar que o ficheiro de definição do teste não está carregado no sistema. Se este ecrã for apresentado, contacte a assistência técnica da Cepheid.

7. Faça clique em **Iniciar teste (Start Test)**. Introduza a sua palavra-passe na caixa de diálogo apresentada, caso seja necessário.
8. Abra a porta do módulo do instrumento com a luz verde a piscar e carregue o cartucho.
9. Feche a porta. O teste começa e a luz verde para de piscar.  
Quando o teste termina, a luz desliga-se.
10. Aguarde até o sistema desbloquear a porta do módulo antes de a abrir e, em seguida, retire o cartucho.
11. Elimine os cartuchos usados no recipiente apropriado para resíduos de amostras, de acordo com as práticas padrão da sua instituição.

**13.1.3 Visualização e impressão de resultados**

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

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

**13.2 GeneXpert Infinity System****13.2.1 Iniciar o teste**

**Antes de iniciar o teste, certifique-se de que:**

**Importante**

- O sistema está a funcionar com a versão do software Xpertise correta mostrada na secção Materiais necessários mas não fornecidos.
- O ficheiro de definição do teste correto foi importado para o software.

Esta secção indica as etapas básicas para a execução do teste. Para obter instruções detalhadas, consulte *GeneXpert Infinity System Operator Manual*.

**Nota**

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

1. Ligue o instrumento. O software Xpertise arranca automaticamente. Se não arrancar, faça duplo clique no ícone de atalho do software Xpertise no ambiente de trabalho do Windows®.
2. Inicie sessão no computador e, em seguida, inicie sessão no software GeneXpert Xpertise, utilizando o seu nome de utilizador e palavra-passe.
3. Na **área de trabalho inicial do software Xpertise (Xpertise Software Home)**, clique em **Pedidos (Orders)** e, na área de trabalho de **Pedidos (Orders)**, clique em **Pedir teste (Order Test)**.  
É apresentada a área de trabalho de **Pedir teste - ID do doente (Order Test - Patient ID)**.



4. Leia ou introduza a ID do doente (Patient ID). Se digitar a ID do doente (Patient ID), assegure-se de que digita a ID do doente correta.  
A ID do doente (Patient ID) é associada aos resultados do teste e é apresentada na janela **Ver resultados (View Results)** e em todos os relatórios.
5. Introduza quaisquer informações adicionais exigidas pela sua instituição e clique no botão **CONTINUAR (CONTINUE)**.  
É apresentada a área de trabalho **Pedir teste - ID da amostra (Order Test - Sample ID)**.
6. Leia ou introduza a ID da amostra (Sample ID). Se digitar a ID da amostra (Sample ID), assegure-se de que digita a ID da amostra correta.  
A ID da amostra é associada aos resultados do teste e é apresentada na janela **Ver resultados (View Results)** e em todos os relatórios.
7. Clique no botão **CONTINUAR (CONTINUE)**.  
A área de trabalho **Pedir teste - Teste (Order Test - Assay)** é apresentada.
8. Leia o código de barras do cartucho. Utilizando a informação do código de barras, o software preenche automaticamente as caixas para os seguintes campos: Selecionar teste (Select Assay), ID lote de reagente (Reagent Lot ID), N/S do cartucho (Cartridge SN) e Prazo de validade (Expiration Date).

**Nota**

Se o código de barras no cartucho não puder ser lido digitalmente, repita o teste com um novo cartucho. Se tiver lido o código de barras do cartucho no software e o ficheiro de definição do teste não estiver disponível, será apresentado um ecrã a indicar que o ficheiro de definição do teste não está carregado no sistema. Se este ecrã for apresentado, contacte a assistência técnica da Cepheid.

Depois de efetuar a leitura do cartucho, será apresentada a área de trabalho de **Pedir teste - Informação sobre o teste (Order Test - Test Information)**.

9. Verifique se as informações estão corretas e clique em **Submeter (Submit)**. Introduza a sua palavra-passe na caixa de diálogo apresentada, caso seja necessário.
10. Coloque o cartucho na correia transportadora.  
O cartucho será carregado automaticamente, o teste será executado e o cartucho usado será colocado no recipiente para resíduos.

### 13.2.2 Visualização e impressão de resultados

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

1. Na **área de trabalho inicial do software Xpertise**, clique no ícone de **RESULTADOS (RESULTS)**. É apresentado o menu Resultados (Results).
2. No menu Resultados (Results), seleccione o botão **VER RESULTADOS (VIEW RESULTS)**. É apresentada a área de trabalho de **Ver resultados (View Results)**, mostrando os resultados do teste.
3. Clique no botão **RELATÓRIO (REPORT)** para visualizar e/ou gerar um relatório em ficheiro PDF.

## 14 Controlo de qualidade

Cada teste inclui uma verificação da sonda (PCC).

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

**Controlos externos** — também podem ser utilizadas amostras de sangue total normal, heterozigótico ou homozigótico para o Fator II/Fator V (anticoagulante citrato de sódio ou EDTA) ou controlos disponíveis no mercado que tenham sido validados com o sistema para formação, testes de proficiência e CQ externo do teste Xpert Factor II & Factor V. É necessário material celular. Não utilize ADN extraído. Podem ser utilizados controlos externos de acordo com organizações de acreditação locais, nacionais e europeias, consoante aplicável.

## 15 Interpretação dos Resultados

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

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

Para resultados do Xpert FII quando é selecionado o tipo de teste FII no menu pendente, consulte da Figura 3 à Figura 5.

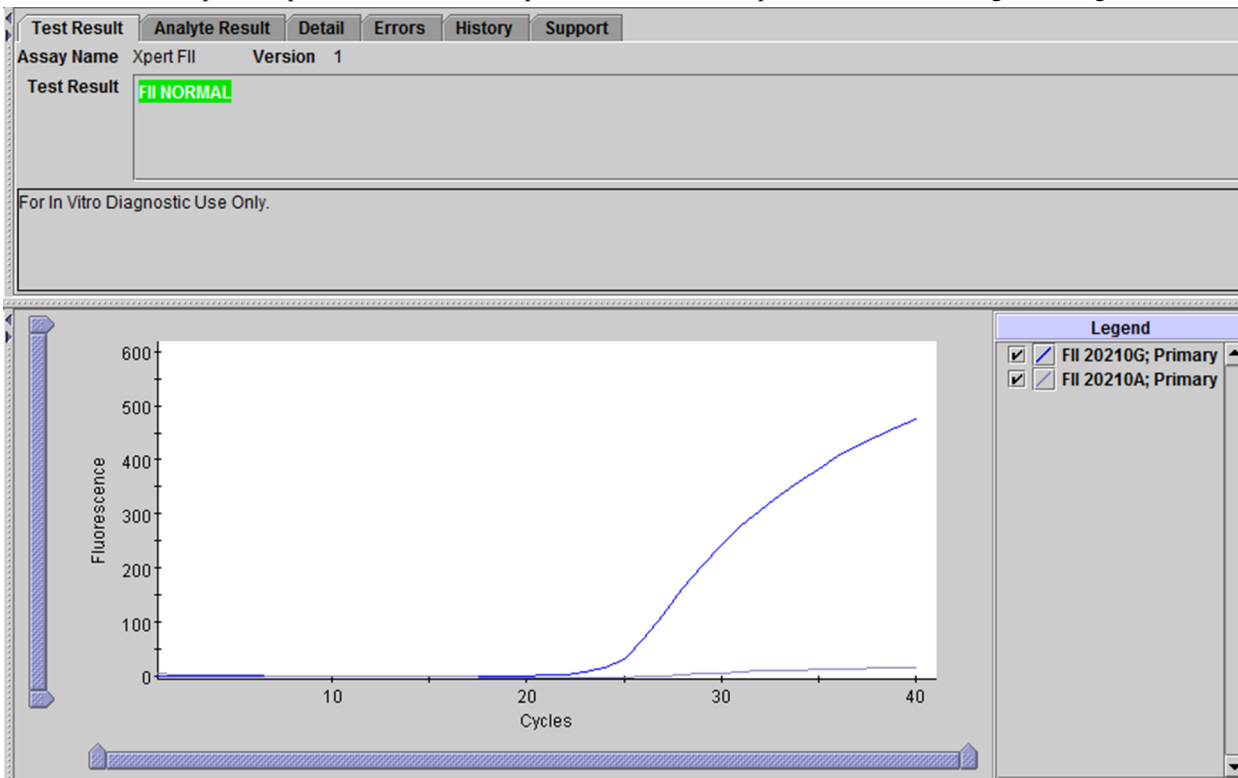


Figura 3. GeneXpert Instrument Systems — Janela Ver resultados (View Results), resultado normal do Fator II

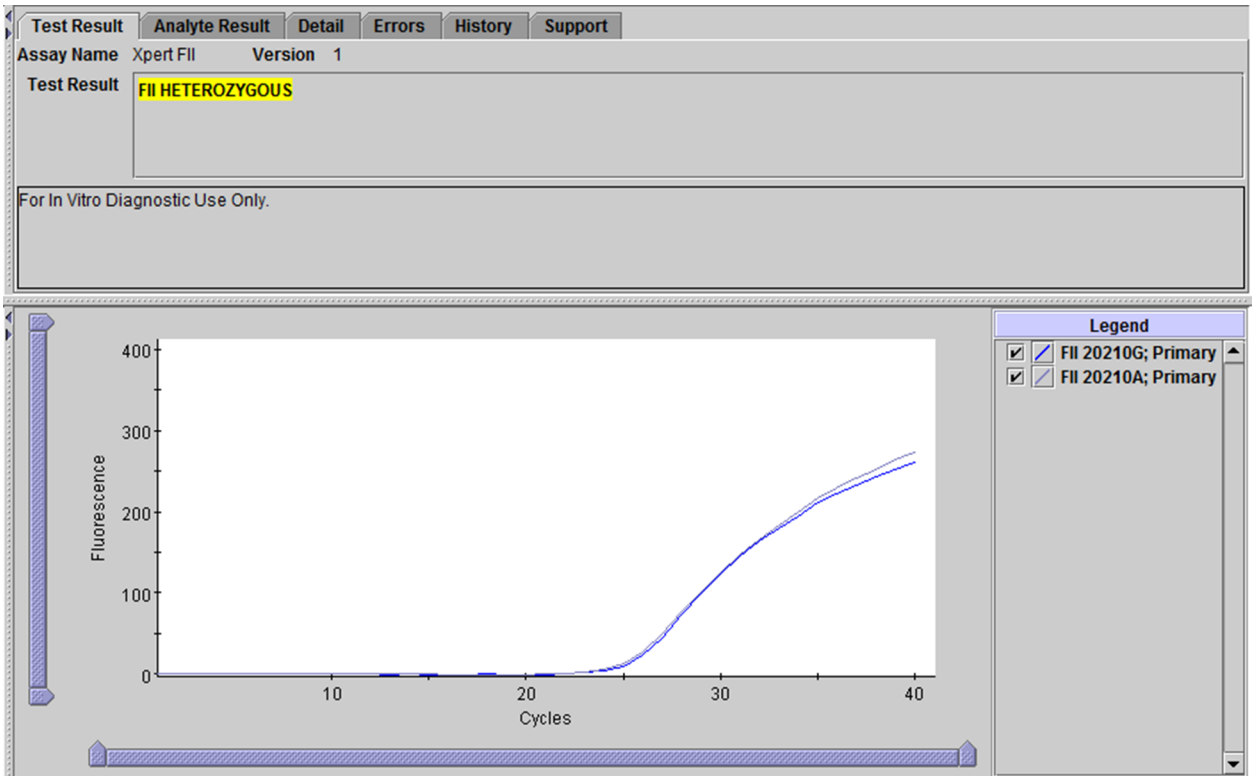


Figura 4. GeneXpert Instrument Systems— Janela Ver resultados (View Results), resultado do Fator II heterozigótico

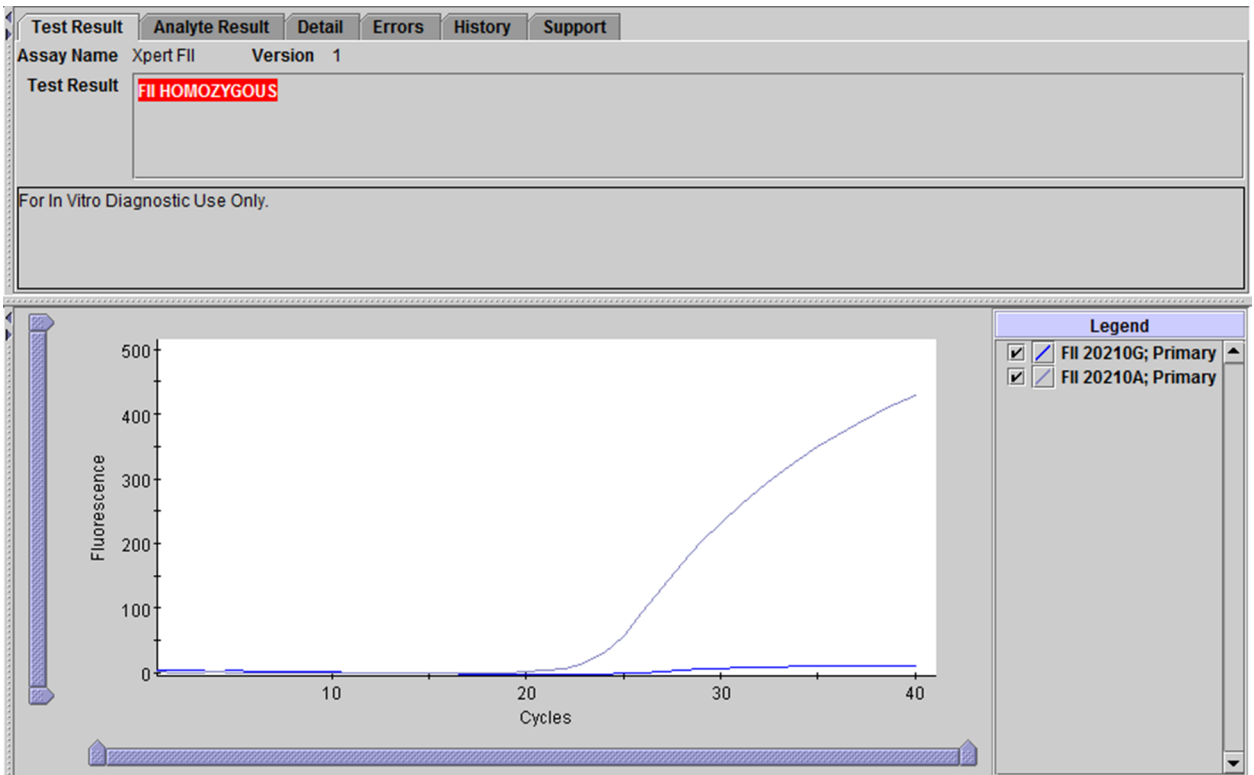
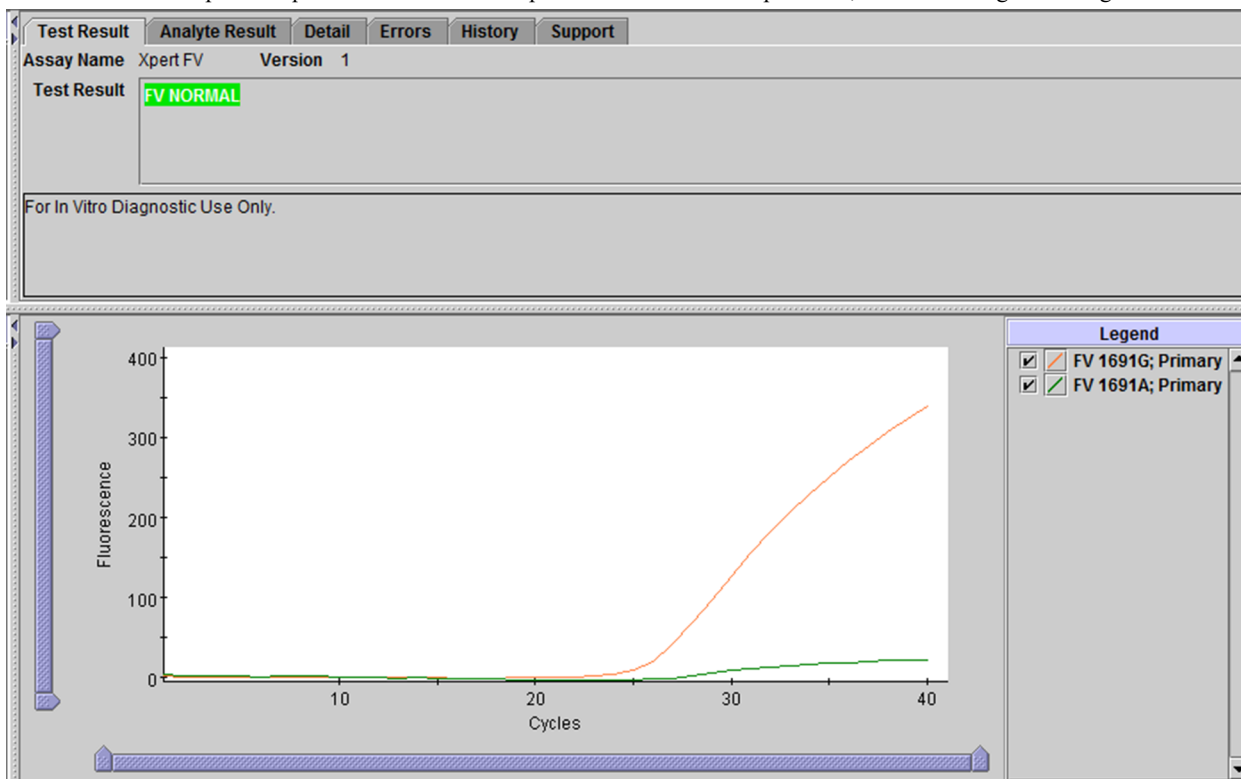
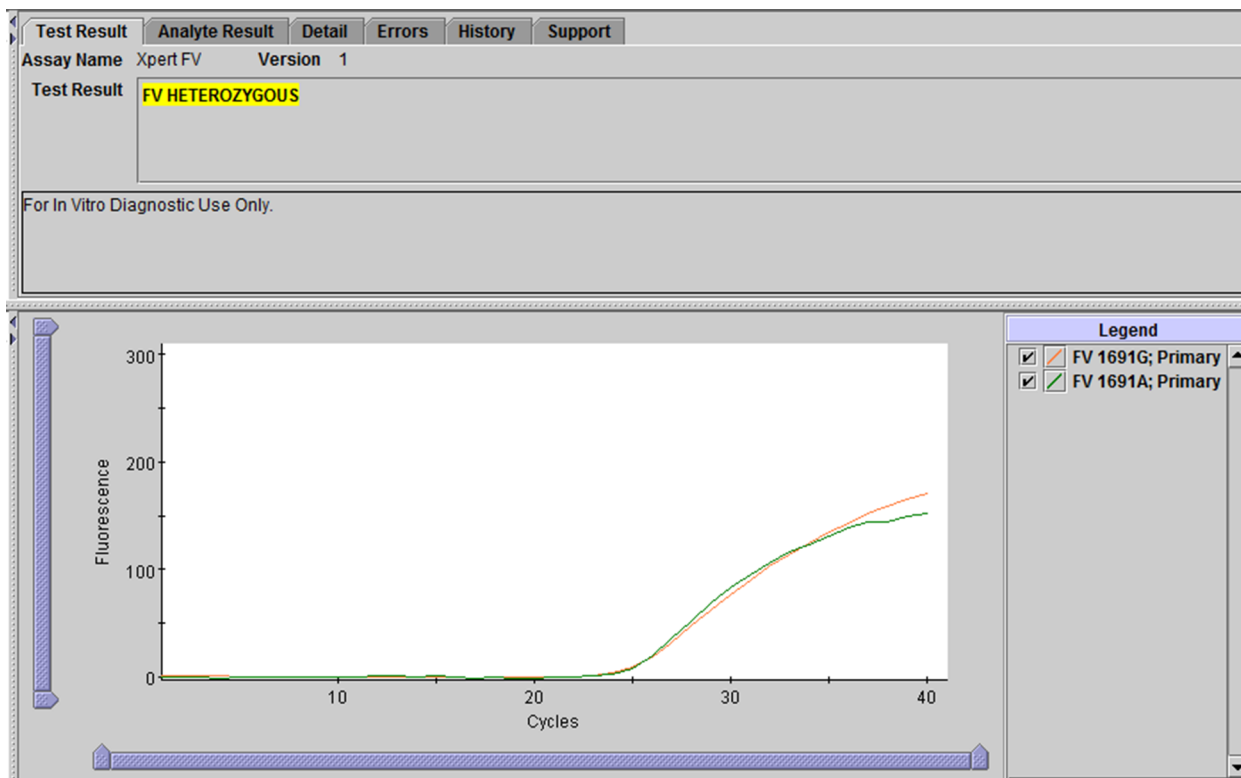


Figura 5. GeneXpert Instrument Systems— Janela Ver resultados (View Results), resultado do Fator II homozigótico

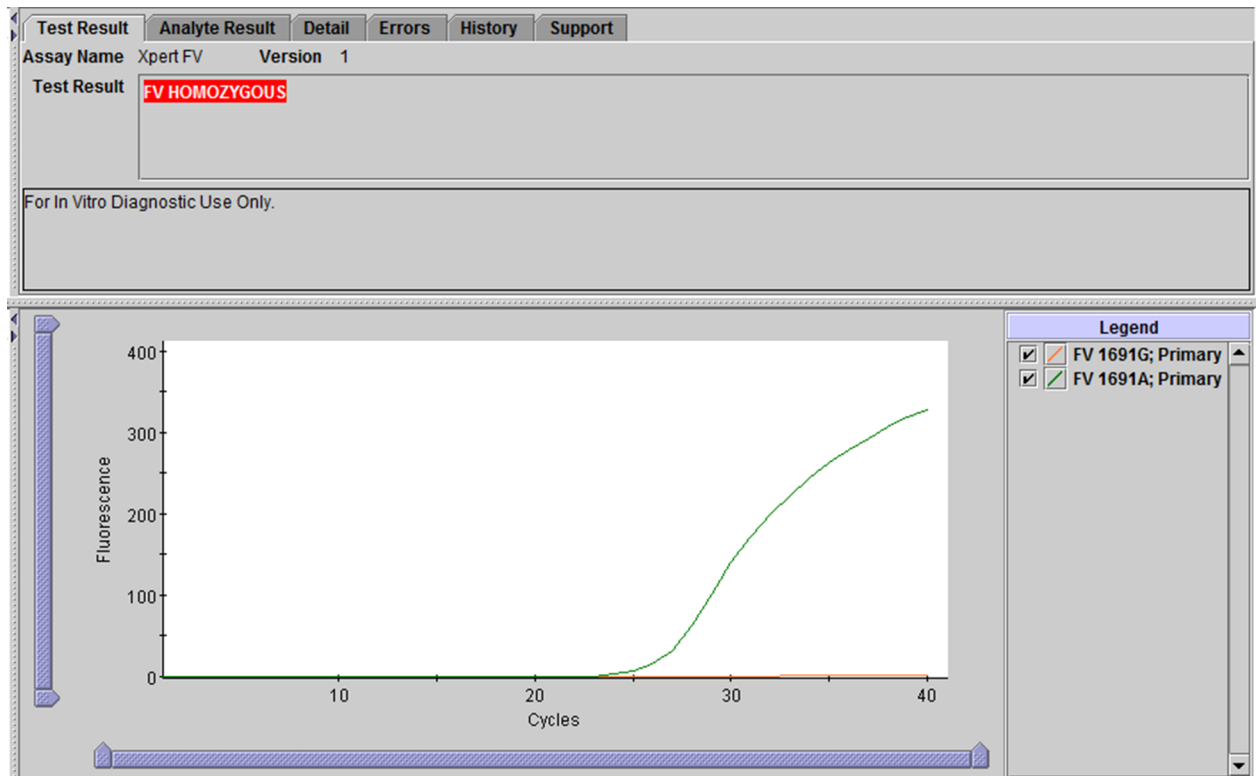
Para resultados do Xpert FV quando é selecionado o tipo de teste FV no menu pendente, consulte da Figura 6 à Figura 8.



**Figura 6. GeneXpert Instrument Systems — Janela Ver resultados (View Results), resultado do Fator V normal**



**Figura 7. GeneXpert Instrument Systems— Janela Ver resultados (View Results), resultado do Fator V heterozigótico**



**Figura 8. GeneXpert Instrument Systems— Janela Ver resultados (View Results), resultado do Fator V homozigótico**

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

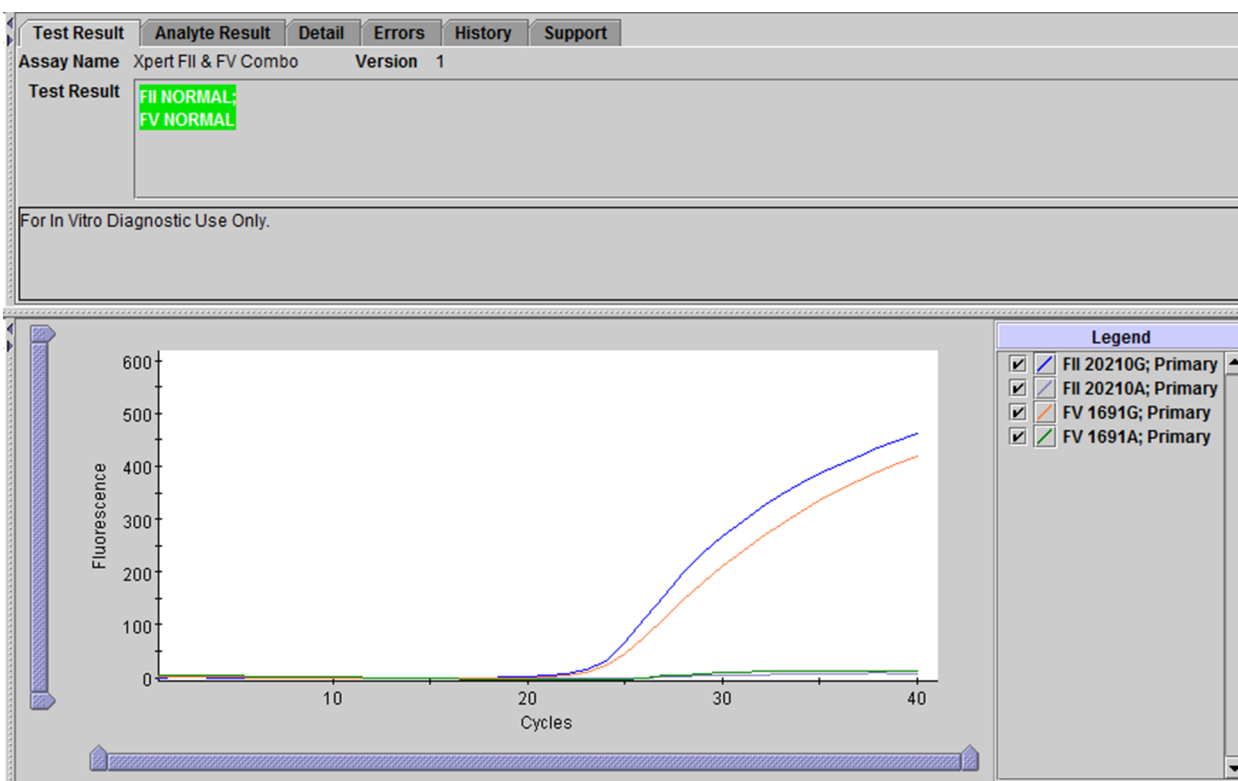


Figura 9. GeneXpert Instrument Systems— Janela Ver resultados (View Results), resultado do Fator II e do Fator V normal

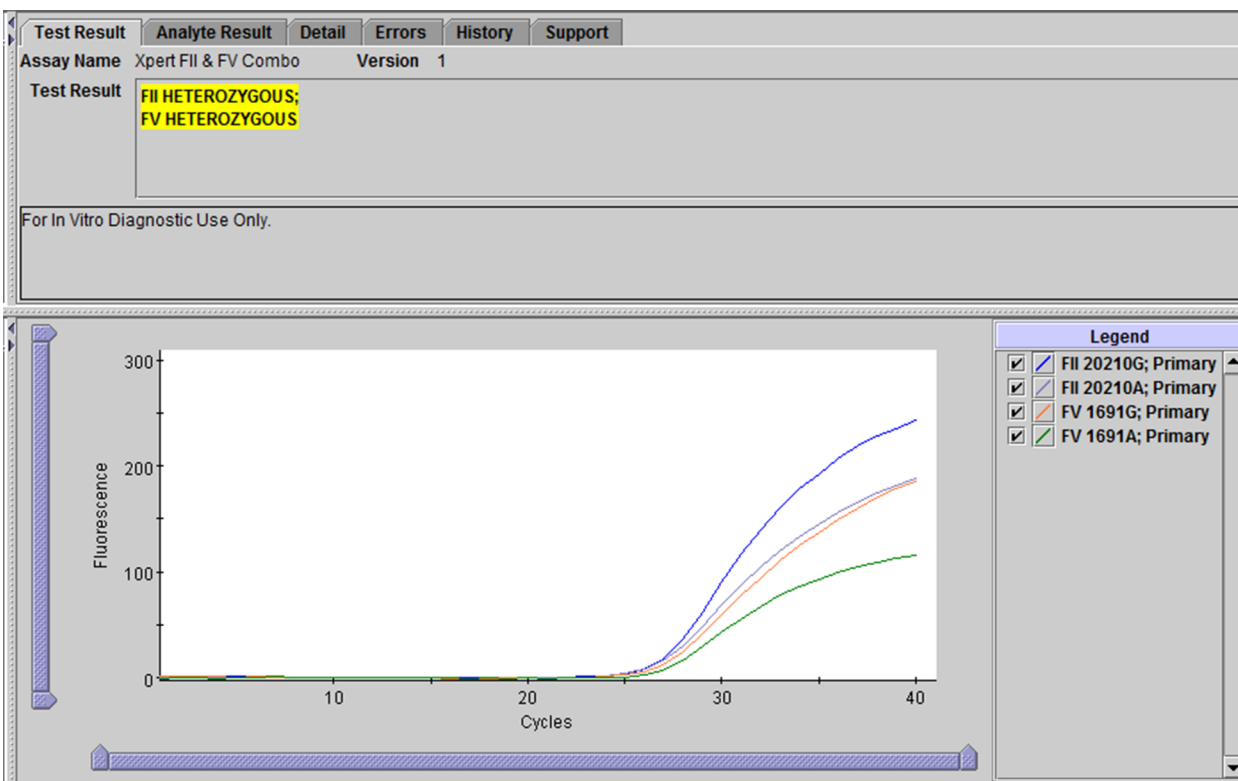
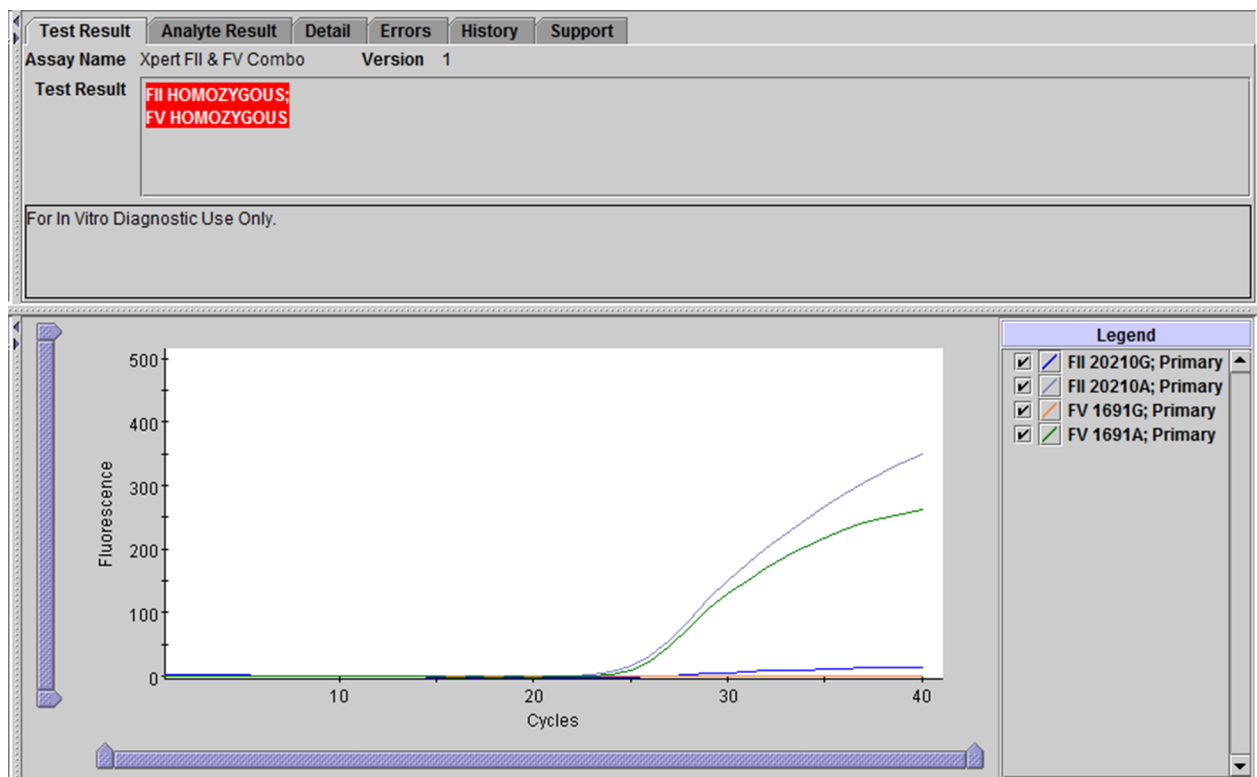


Figura 10. GeneXpert Instrument Systems— Janela Ver resultados (View Results), resultado do Fator II e do Fator V heterozigótico



**Figura 11. GeneXpert Instrument Systems— Janela Ver resultados (View Results), resultado do Fator II e do Fator V homozigótico**

### INVÁLIDO (INVALID)

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

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

### ERRO (ERROR)

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

- **ERRO (ERROR)**
- Verificação da sonda — FALHOU (Probe Check — FAIL)\*; um ou mais dos resultados de verificação da sonda falharam.

\*Se a verificação da sonda passou, o erro é causado pela falha de um dos componentes do sistema.

### SEM RESULTADO (NO RESULT)

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

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

## 16 Motivos para repetir o teste

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

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

## 17 Limitações do procedimento

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

## 18 Substâncias interferentes

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

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

## 19 Valores esperados

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

## 20 Características do Desempenho

### 20.1 Desempenho Clínico

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

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



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

### Teste Xpert Factor II & Factor V

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

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

**Tabela 1. Desempenho do teste Xpert Factor II & Factor V vs. Sequenciamento bidirecional**

Genótipo	Número testado	Número de atribuições corretas na primeira análise	Número de inválidos <sup>a</sup> Chamadas na primeira execução	Concordância na primeira análise	Número de atribuições corretas incluindo análise de repetição	Número de atribuições inválidas Atribuições na análise de repetição	Concordância após análise de repetição
Fator II G20210A							
WT <sup>b</sup>	968	927	41	95,8%	963	5	99,5%
HET	50	48	2	96,0%	48	2	96,0%
HOM	7	7	0	100,0%	7	0	100%
Global	1025 <sup>c</sup>	982	43	95,8%	1018	7	99,3%
Fator V G1691A							
WT	895	860	35	96,1%	889	6	99,3%
HET	114	108	6	94,7%	113	1	99,1%
HOM	12	11	1	91,7%	12	0	100,0%
Global	1021 <sup>d</sup>	979	42	95,9%	1014	7	99,3%

<sup>a</sup> Sem resultados discordantes. Os resultados inválidos referem-se a resultados "indeterminados"

<sup>b</sup> WT (selvagem) é normal

<sup>c</sup> Resultados de sequenciação bidirecional para o Fator II não foram disponibilizados para 4 amostras

<sup>d</sup> Resultados de sequenciação bidirecional para o Fator V não foram disponibilizados para 8 amostras

## 20.2 Desempenho Analítico

### 20.2.1 Especificidade analítica

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

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

### 20.2.2 Sensibilidade analítica

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

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

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

### 20.2.3 Reprodutibilidade

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

Painel do estudo:

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

É apresentado um resumo dos resultados por local na Tabela 2 e na Tabela 3. Não há diferença estatisticamente significativa nos resultados entre locais, para qualquer um dos fatores, Fator II (p=1.000) ou Fator V (p=1.000).

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

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

<sup>a</sup> Sem resultados discordantes. Uma amostra foi indeterminada depois de reanalisada.

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

ID da amostra	Local 1	Local 2	Centro 3	% de concordância total por amostra
<b>NOR</b>	100% (20/20)	100% (20/20)	100% (20/20)	100% (60/60)
<b>Factor II HET/Factor V NOR</b>	100% (20/20)	100% (20/20)	100% (20/20)	100% (60/60)
<b>Factor II HOM/Factor V NOR</b>	100% (20/20)	100% (20/20)	100% (20/20)	100% (60/60)
<b>Factor II NOR/Factor V HOM</b>	100% (20/20)	100% (20/20)	100% (20/20)	100% (60/60)
<b>Factor II NOR/Factor V HET</b>	100% (20/20)	100% (20/20)	95,0% (19/20) <sup>a</sup>	98,3% (59/60) <sup>a</sup>

<b>% de concordância total por local</b>	100% (60/60)	100% (60/60)	98,3% (59/60) <sup>a</sup>	99,7% (299/300) <sup>a</sup>
--	--------------	--------------	----------------------------	------------------------------

<sup>a</sup> Sem resultados discordantes. Uma amostra foi indeterminada depois de reanalisada.

É apresentado um resumo dos resultados por operador na Tabela 4 e na Tabela 5. Não há diferença estatisticamente significativa nos resultados entre locais, para qualquer um dos fatores, Fator II (p=1.000) ou Fator V (p=1.000).

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

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

<sup>a</sup> Sem resultados discordantes. Uma amostra foi indeterminada depois de reanalisada.

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

ID da amostra	Local 1		Local 2		Centro 3		% de concordância total por amostra
	Op. 1	Op. 2	Op. 1	Op. 2	Op. 1	Op. 2	
<b>NOR</b>	100% (10/10)	100% (10/10)	100% (10/10)	100% (10/10)	100% (10/10)	100% (10/10)	100% (60/60)
<b>Factor II HET/Factor V NOR</b>	100% (10/10)	100% (10/10)	100% (10/10)	100% (10/10)	100% (10/10)	100% (10/10)	100% (60/60)
<b>Factor II HOM/Factor V NOR</b>	100% (10/10)	100% (10/10)	100% (10/10)	100% (10/10)	100% (10/10)	100% (10/10)	100% (60/60)
<b>Factor II NOR/Factor V HOM</b>	100% (10/10)	100% (10/10)	100% (10/10)	100% (10/10)	100% (10/10)	100% (10/10)	100% (60/60)

<b>Factor II NOR/ Factor V HET</b>	100% (10/10)	100% (10/10)	100% (10/10)	100% (10/10)	100% (10/10)	90,0% (9/10) <sup>a</sup>	98,3% (59/60) <sup>a</sup>
<b>% concordância total por operador</b>	100% (50/50)	100% (50/50)	100% (50/50)	100% (50/50)	100% (50/50)	98,0% (49/50) <sup>a</sup>	99,7% (299/300) <sup>a</sup>

<sup>a</sup> Sem resultados discordantes. Uma amostra foi indeterminada depois de reanalisada.

Para avaliar a reprodutibilidade interlote, o painel de 5 amostras, acima descrito foi analisado 2 vezes por dia ao longo de 5 dias de análises, utilizando cada um dos 3 lotes de teste, num único local de teste (5 amostras x 2 análises por dia x 3 lotes x 5 dias). É apresentado um resumo dos resultados por lote na Tabela 6 e na Tabela 7. Não há diferença estatisticamente significativa nos resultados entre lotes, para qualquer um dos fatores, Fator II (p=1.000) ou Fator V (p=1.000).

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

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

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

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

## 21 Bibliografia

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. REGULAMENTO (CE) N.º 1272/2008 DO PARLAMENTO EUROPEU E DO CONSELHO, de 16 de dezembro de 2008, relativo à classificação, rotulagem e embalagem de substâncias e misturas, que altera e revoga a lista de recomendações de prudência, as Diretivas 67/548/CEE e 1999/45/CE, e altera o Regulamento (CE) n.º 1907/2006.
10. Occupational Safety and Health Standards, Hazard Communication, Toxic and Hazard Substances (26 de março de 2012) (29 C.F.R., pt. 1910, subpt. Z).

## 22 Locais das sedes da 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 Assistência técnica

Antes de contactar a assistência técnica da Cepheid, reúna as seguintes informações:

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

### Assistência técnica nos Estados Unidos

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




### Assistência técnica em França















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

As informações de contacto de todos os escritórios da assistência técnica da Cepheid estão disponíveis no nosso website: [www.cepheid.com/en/support/contact-us](http://www.cepheid.com/en/support/contact-us).

Termos e Condições da Cepheid podem ser encontrados em [www.cepheid.com/en/support/support/order-management](http://www.cepheid.com/en/support/support/order-management).

## 24 Tabela de símbolos

Símbolo	Significado
	Número de catálogo
	Dispositivo médico para diagnóstico <i>in vitro</i>
	Não utilizar mais de uma vez

Símbolo	Significado
	Código do lote
	Consultar as instruções de utilização
	Cuidado
	Fabricante
	País de fabrico
	Contém suficiente para $n$ testes
	Controlo
	Prazo de validade
	Marcação CE – Conformidade Europeia
	Mandatário na Comunidade Europeia
	Limites de temperatura
	Riscos biológicos
	Mandatário na Suíça
	Importador



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 Histórico de revisões

Descrição das Alterações: 301-0590, Rev. D a Rev. E

Secção	Descrição da alteração
Em todo o documento	Adicionado GeneXpert Infinity System.
5	Removido "portátil" do leitor de códigos de barras.
8	Remoção do ponto HemosIL FII & FV DNA Control, P/N 0020003500.
13	Procedimentos separados para GeneXpert Dx System e GeneXpert Infinity System.
14	Atualização dos controlos externos.
25	Adição da secção Histórico de revisões.