

Assay-Schulung: Xpert[®] FII & FV Schulung

*Technische Schulung nur für das
US-IVD- und das CE-IVD-Produkt*



Schulungsprogramm

- Xpert FII & FV Schulung
 - Klinischer Nutzen
 - Lagerung und Handhabung der Kits
 - Entnahme, Transport und Lagerung von Proben
 - Vorbereitung der Kartusche
 - Assay-Zielsequenzen
 - Ergebnisanalyse
 - Qualitätskontrolle
 - Diskussion und Fragen



Schulungsziele

Am Ende der Schulung haben die Anwender folgende Kenntnisse erworben:

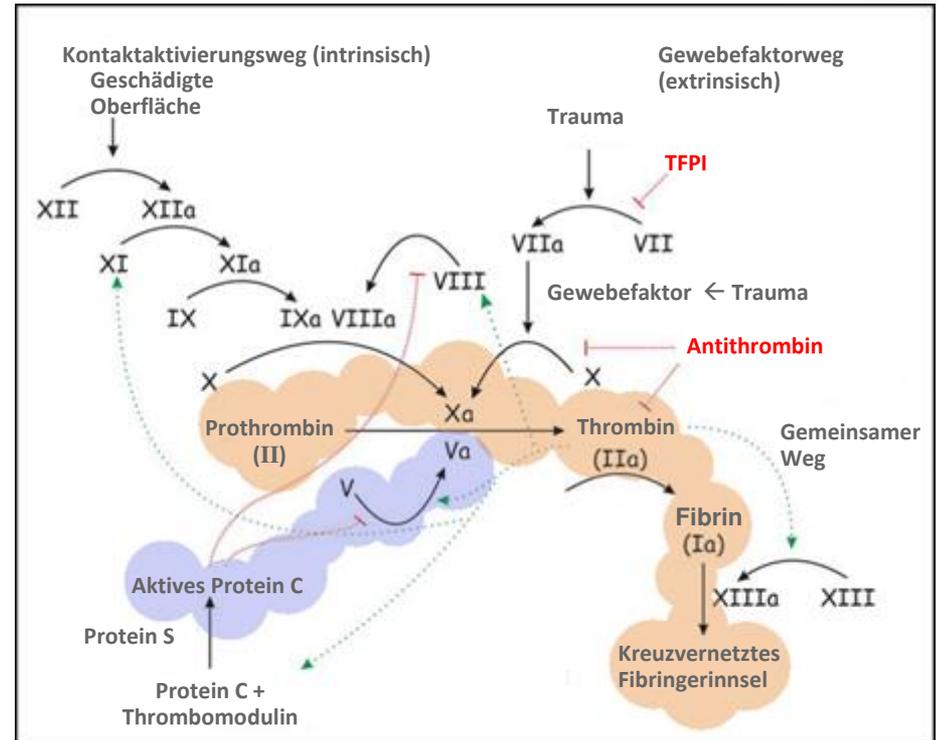
- Lagerung und Handhabung der Xpert FII & FV Materialien
- Korrekte Befolgung der Vorsichtsmaßnahmen zur Sicherheit im Labor
- Entnahme geeigneter Probenarten und Transport von Patientenproben
- Vorbereitung der Kartusche und Durchführung des Assays
- Weitergabe der verschiedenen von der Software ausgegebenen Ergebnisse
- Entsorgung des verwendeten Materials

FII & FV-Leiden



Was sind FII- und FV-Leiden-Mutationen?

- Faktor-II- (G20210A) und Faktor-V-Leiden-Mutationen (G1691A) sind verbunden mit einem erhöhten Risiko für Venenthrombose.
- In der Allgemeinbevölkerung kommen diese Mutationen mit einer Inzidenz von 2 % bzw. 5 % vor.
- **Faktor-II- oder Prothrombin-Mutation (G20210A)**
 - G ausgetauscht gegen A an Nukleotid 20210 in der nicht-translatierten 3'-Region des Gens
 - verbunden mit erhöhtem Plasma-Prothrombinspiegel
- **Faktor-V-Leiden-Mutation (G1691A)**
 - G ausgetauscht gegen A an der Nukleotidposition 1691 des Faktor-V-Gens
 - dadurch wird im Faktor-V-Protein die Aminosäure Arginin durch Glutamin ersetzt,
 - was eine Resistenz gegen die Spaltung durch aktiviertes Protein C (APC) zur Folge hat.



Genotypen

	Normal	Heterozygot	Homozygot (Mutante)
Faktor II	GG	GA	AA
Faktor V	GG	GA	AA

Die Lösung von Cepheid



- Gleichzeitiger Nachweis
 - Normale und mutierte Allele von Faktor II und Faktor V
- Eine interne Kontrolle für jede einzelne Probe
 - Sondenprüfungskontrolle (PCC)
- Ergebnisse in ca. 30 Minuten
- Unkomplizierte Anwendung
 - Geschlossenes Kartuschensystem
- Bedarfsbasierte Ergebnisse rund um die Uhr
- Wahlfreier Zugriff

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 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.

Anforderungen an System und Reagenzien

GeneXpert Systeme

- 6-Farben-Module
- GXDX oder Xpertise Software ab Version 4.0

Testkits

- GXFIIFV-10

Probenentnahme

- Vollblut in EDTA- oder Natriumcitrat-Entnahmeröhrchen

Erforderliche, jedoch nicht im Lieferumfang enthaltene Materialien

- Pipette zur Dispensierung von 50 µl Natriumcitrat- oder EDTA-antikoaguliertem Blut mit aerosolresistenten Filterspitzen
- Bleichmittel
- 70%iges Ethanol oder denaturiertes Ethanol

Bestandteile des Xpert FII & FV Kits

Tests pro Kit	10
Kit-CD	Assay-Definitionsdateien (Assay Definition Files, ADF)
	Anleitung für den Import des Assays
	Packungsbeilage
Lagerung	2–28 °C



Das Lysereagenz enthält Guanidinthiocyanat (H302, H316, H320, H402, EUH031), das gesundheitsschädlich bei Verschlucken ist, leichte Hautreizungen und Augenreizungen verursacht, für Wasserorganismen schädlich ist und bei Berührung mit Säure giftige Gase entwickelt.

Lagerung und Transport von Xpert FII & FV Proben

Probe	Transport- und Lagertemperatur (°C)	Haltbarkeit
Vollblut in EDTA oder Vollblut in Natriumcitrat- antikoagulierten Röhrchen	2–8 °C	15 Tage
	22–28 °C (Raumtemperatur)	24 Stunden
	-20 °C oder -80 °C	3 Monate



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

Gute Laborpraxis

Einrichtung des PCR-Labors

- Vorbereitung von Kartuschen/Reagenzien → Zugabe der Probe → Nachweis

Lagerung von Proben und Reagenzien

- Zur Vermeidung von Kontaminationen der Reagenzien müssen Patientenproben von Reagenzien getrennt gelagert werden.

Ausrüstung

- Bei Bedarf Pipettenspitzen mit Filter verwenden.
- Die Empfehlungen des jeweiligen Herstellers zu Kalibrierung und Wartung der Laborgeräte befolgen.
- Das GeneXpert-Instrument regelmäßig warten.

Gute Laborpraxis, Fortsetzung

Sauberkeit

- Arbeitsflächen zuerst mit 1:10 in Wasser verdünnter Haushaltsbleiche* und anschließend mit einer 70%igen Ethanollösung reinigen. Die Arbeitsflächen trockenwischen.

Personal

- Saubere Laborkittel und Handschuhe verwenden.
- Nach der Bearbeitung jeder einzelnen Probe die Handschuhe wechseln.

Labortischbereich

- Der Labortischbereich muss regelmäßig gereinigt werden.
- Die Rückseite des Instruments regelmäßig abstauben.

* Die Endkonzentration von aktivem Chlor sollte unabhängig von der im jeweiligen Land üblichen Chlorbleiche 0,5 % betragen.

Lagerung und Handhabung des Xpert FII & FV Kits

- Testkits bei 2–28 °C lagern. Keine abgelaufenen Kartuschen verwenden.
- Jede Einweg-Kartusche dient zur Durchführung eines einzigen Tests. Verbrauchte Kartuschen nicht wiederverwenden.
- Kartuschen erst unmittelbar vor dem Gebrauch öffnen.
 - Der Test muss innerhalb von 15 Minuten nach Zugabe der Probe in die Kartusche begonnen werden.
- Beim Umgang mit den Proben Kreuzkontaminationen vermeiden.
 - Die Handschuhe sind zu wechseln, wenn sie in Kontakt mit Patientenproben gekommen sind oder augenscheinlich nass sind.
 - Die Handschuhe sind beim Verlassen bzw. Betreten des Arbeitsbereichs zu wechseln.
- Keine Kartuschen verwenden, die fallen gelassen oder geschüttelt wurden, nachdem die Probe in die Kartusche transferiert wurde. Wenn die Kartusche nach dem Öffnen des Deckels geschüttelt oder fallen gelassen wird, sind die Ergebnisse möglicherweise ungültig.
- Kartuschen mit beschädigtem Reaktionsbehälter dürfen nicht verwendet werden.
- Keine leckenden Kartuschen verwenden.

Vorbereitung der Xpert FII & FV Kartusche

Vorbereitung der Xpert® Factor II & Factor V Kartusche

Ausführliche Anweisungen, Vorsichtsmaßnahmen und Warnhinweise sind der Packungsbeilage zu entnehmen.

Ein Exemplar des SDS (Sicherheitsdatenblatts) ist auf www.cepheid.com oder www.cepheidinternational.com abrufbar

Technischer Kundendienst von Cepheid
US-Niederlassung
(888) 838-3222, Option 2
techsupport@cepheid.com

Europäische Niederlassung
+33 563 82 53 19
support@cepheideurope.com



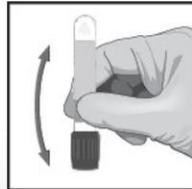
1 Ein EDTA- bzw. Natriumcitrat-Probenentnahmeröhrchen beschaffen.



2 Eine Xpert Factor II & Factor V Kartusche beschaffen.



3 Die Probe durch 5-maliges Umdrehen des Probenröhrchens vorsichtig mischen, bis sie homogen ist.



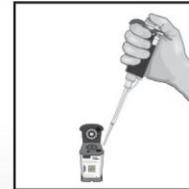
4 Den Deckel der Xpert Kartusche öffnen.



5 Mit einer Vollpipette mit aerosolresistenter Spitze 50 µl der Probe aspirieren.



6 Die Probe auf den Boden der mit „S“ bezeichneten Kammer der Kartusche transferieren.

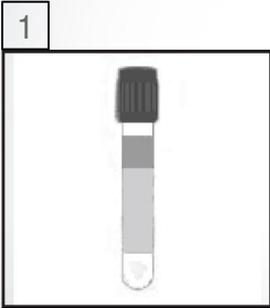


7 Den Deckel der Xpert Kartusche schließen.



8 Die Kartusche laden und den Assay starten.

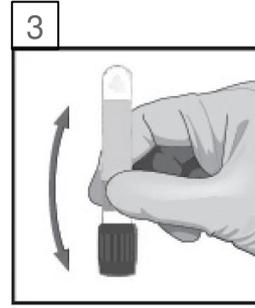
Vorbereitung der FII & FV Kartusche



Ein EDTA- bzw. Natriumcitrat-Probenentnahmeröhrchen beschaffen.



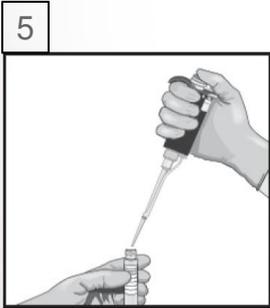
Eine Xpert Factor II & Factor V Kartusche beschaffen.



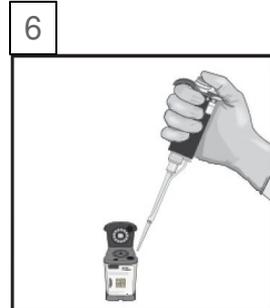
Die Probe durch 5-maliges Umdrehen des Röhrchens vorsichtig mischen, bis sie homogen ist.



Den Deckel der Xpert Kartusche öffnen.



Mit einer Vollpipette mit aerosolresistenter Spitze 50 µl der Probe aspirieren.



Die Probe auf den Boden der mit „S“ bezeichneten Kammer der Kartusche transferieren.



Den Deckel der Xpert Kartusche schließen.

8
Den Test innerhalb des in der Packungsbeilage angegebenen Zeitrahmens beginnen.

Kombinatorische Ausgabe: Xpert FII & FV ADF

- Mit der kombinatorischen Funktion in der GX-Software v4.0 oder höher kann der Benutzer eine von drei Assay-Berichtsoptionen auswählen:
 - „Xpert FII“, „Xpert FV“ oder „Xpert FII & FV Combo“

The screenshot displays a software interface for configuring a test. It includes input fields for Patient ID and Sample ID, both containing the value '12345'. Below these is a table for selecting assays and modules. The 'Select Assay' dropdown is set to 'Xpert FV'. The 'Select Module' dropdown is set to 'Xpert FV'. The 'Reagent Lot ID*' dropdown is set to 'Xpert FII & FV Combo'. The 'Test Type' dropdown is set to 'Specimen'. The 'Sample Type' dropdown is set to 'Other', and there is an 'Other Sample Type' input field. A 'Notes' text area is located below the dropdowns. At the bottom of the interface are three buttons: 'Start Test', 'Scan Cartridge Barcode', and 'Cancel'.

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

Kombinatorische Ausgabe: Xpert FII & FV ADF

- Den gewünschten Test aus dem Dropdownmenü „Assay auswählen“ (Select Assay) wählen.

Name	Version
Xpert FV	1
Xpert FII	1
Xpert FII & FV Combo	1

- Nach Testbeginn wird nur das Testergebnis für den in diesem Schritt ausgewählten Assay erfasst.
 - Beispiel: Wählt der Benutzer die Option „Xpert FII“, so kann nach Starten des Assays die Option nicht mehr in die Erfassung spezifischer Daten für FII und FV geändert werden.

Schritte bei der Durchführung des automatisierten Xpert FII & FV-Tests



Qualitätskontrolle

Vollständige Einzelheiten sind der Packungsbeilage zu entnehmen.



Die Assay-Kontrollstrategie von Cepheid

- Jede Xpert Kartusche ist eine abgeschlossene Testeinheit.
 - Cepheid hat spezielle molekulare Methoden entwickelt, um interne Kontrollen ins Verfahren aufzunehmen, mit denen das System in jeder Kartusche bestimmte Fehlermodi erkennen kann.
 - Instrumentensystemkontrolle: Status prüfen
 - Endogene Kontrolle
 - Reagenzienkontrolle: Sondenprüfung

Instrumentensystemkontrolle – Status prüfen

- Die Systemkontrolle überprüft die Optik, die Temperatur des Moduls und die mechanische Integrität der einzelnen Kartuschen.
 - Schlagen die Systemkontrollen fehl, wird als Testergebnis „FEHLER“ (ERROR) ausgegeben.

Sondenprüfungskontrolle – PCC

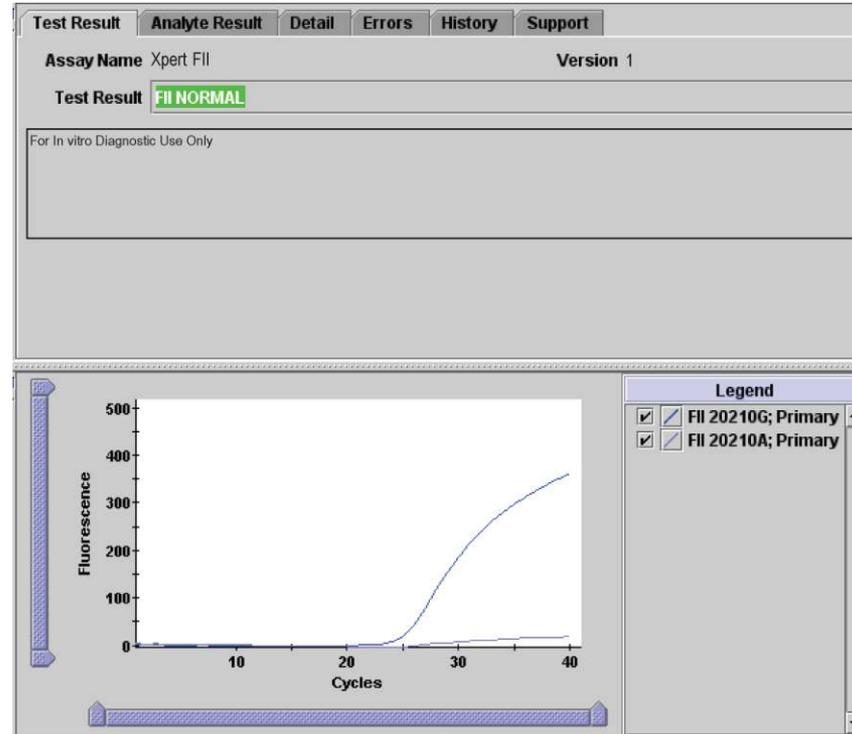
- Vor Beginn der PCR-Reaktion wird das Fluoreszenzsignal der Sonde gemessen, um die Rehydrierung der Kügelchen, Füllung des Reaktionsbehälters, Unversehrtheit der Sonden und Stabilität des Farbstoffs zu überprüfen.
- Die Messwerte werden mit den von Cepheid festgelegten Standardeinstellungen verglichen.
- Die Sondenprüfung erkennt:
 - fehlende Kügelchen für Target-spezifische Reagenzien (Target Specific Reagent, TSR) und/oder Enzymreagenzien, die alle Primer, Sonden und die Vorlage für die internen Kontrollen enthalten
 - die unvollständige Rekonstitution von Reagenzien
 - nicht ausreichend gefüllte Reaktionsbehälter
 - Sondenverderb
- Die PCC ist erfolgreich, wenn sie die zugewiesenen Akzeptanzkriterien erfüllt.
- Schlägt die Sondenprüfung fehl, wird als Testergebnis FEHLER (ERROR) ausgegeben.

Ergebnisanalyse

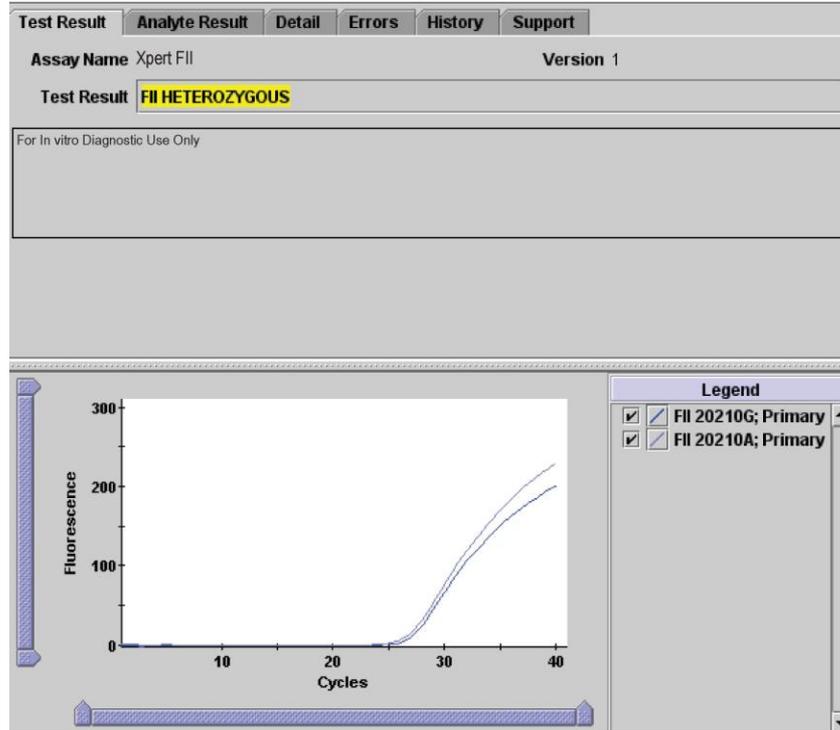
Vollständige Einzelheiten sind der Packungsbeilage zu entnehmen.



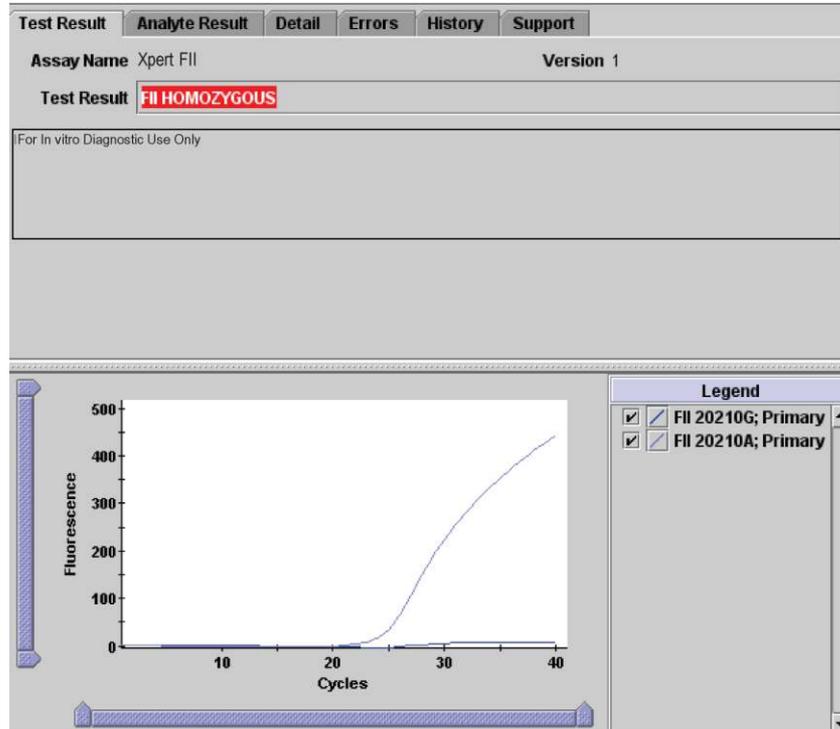
Xpert FII-Ergebnis normal



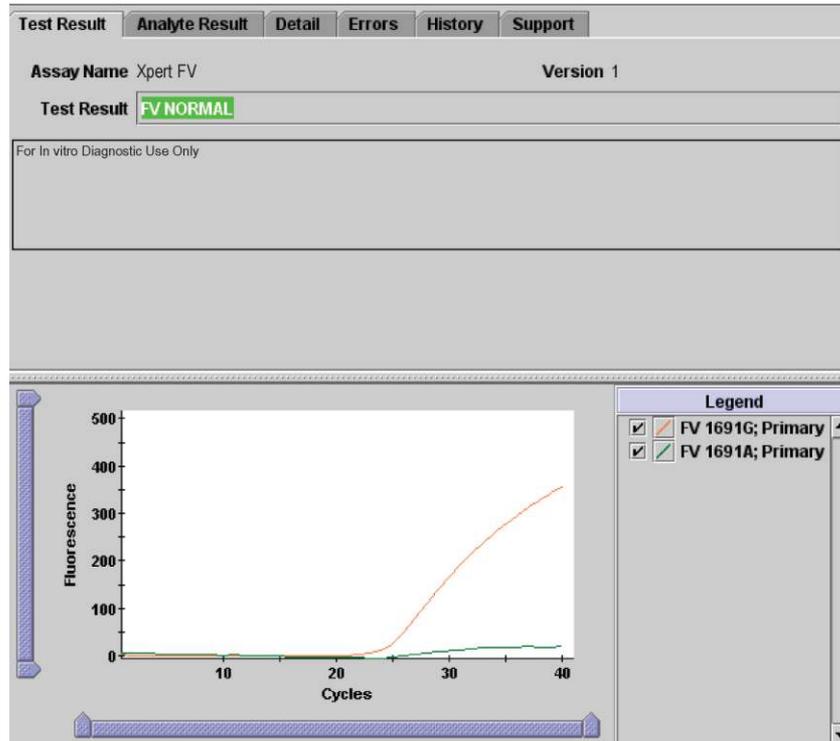
Xpert FII-Ergebnis heterozygot



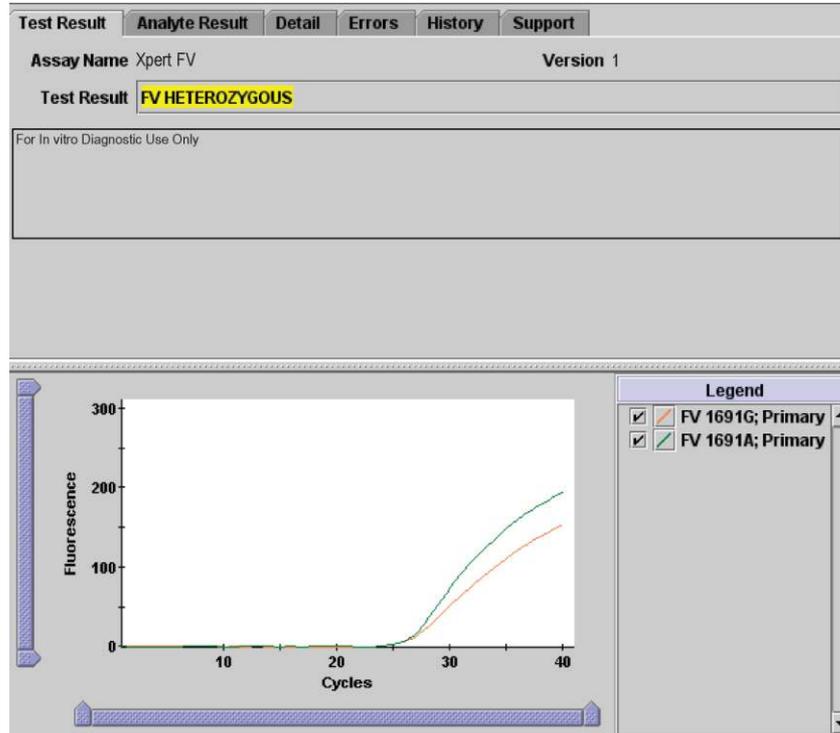
Xpert FII-Ergebnis homozygot



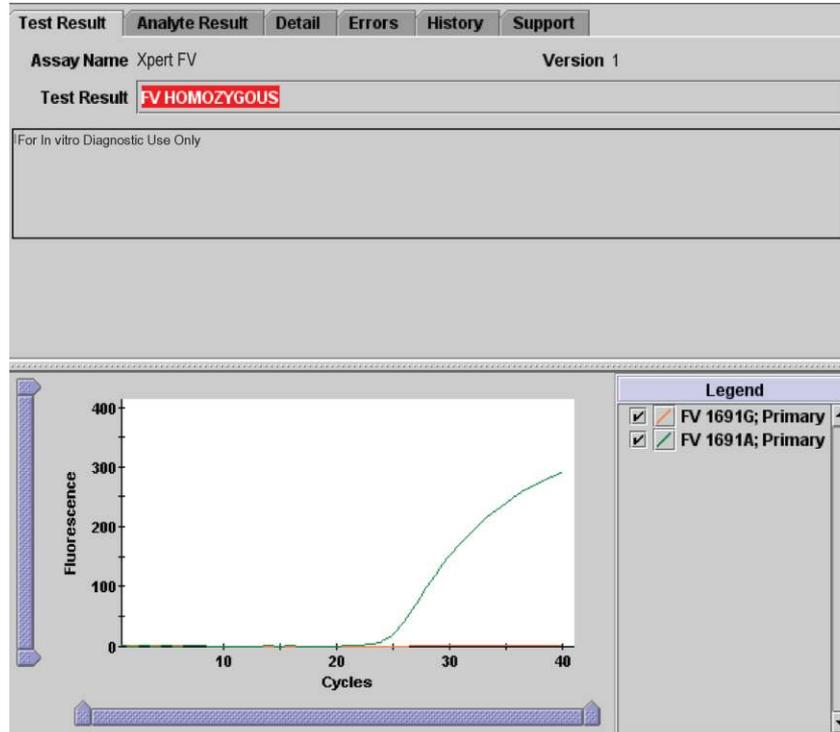
Xpert FV-Ergebnis normal



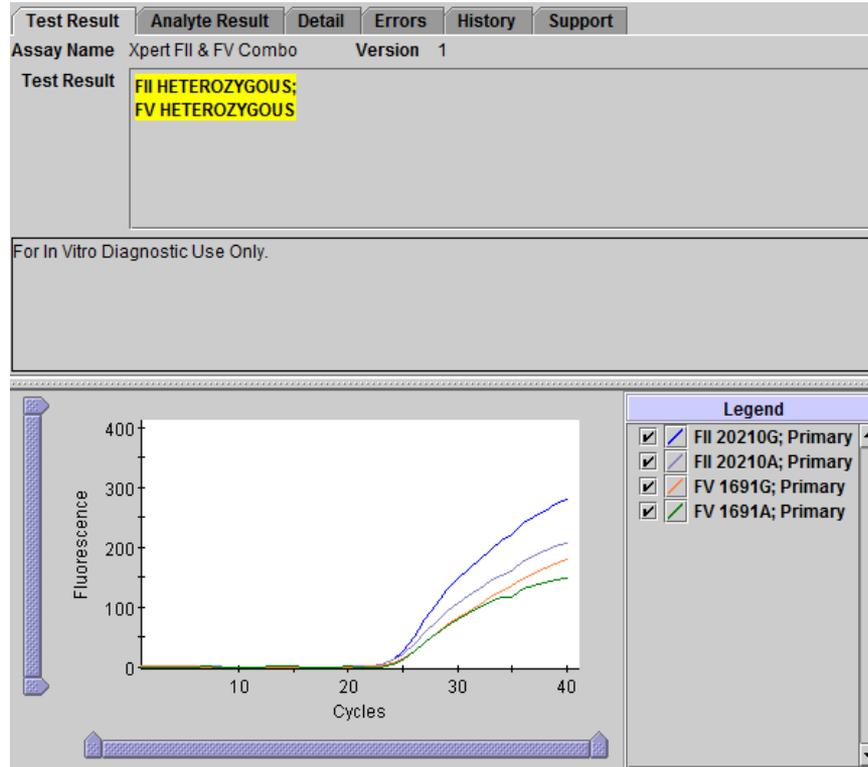
Xpert FV-Ergebnis heterozygot



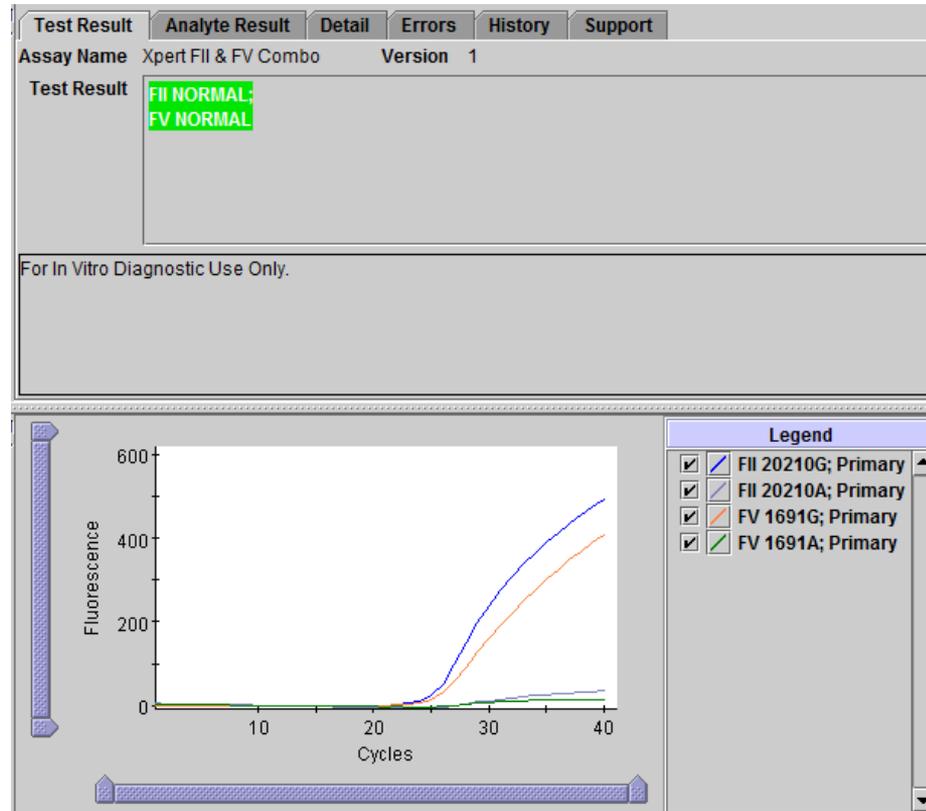
Xpert FV-Ergebnis homozygot



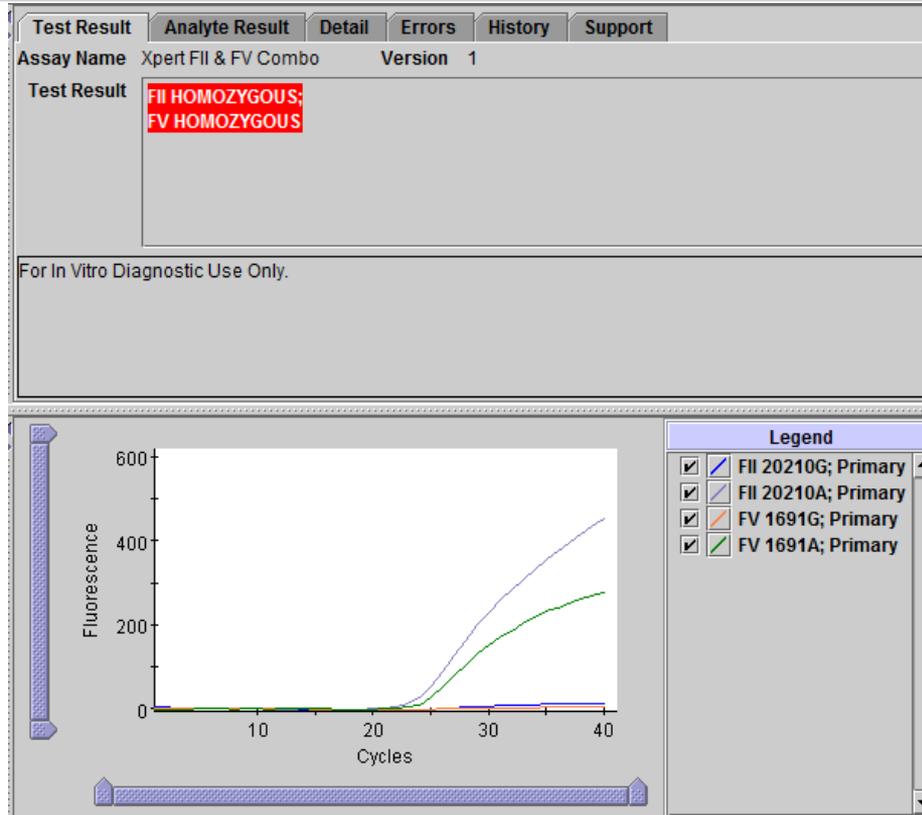
Xpert FII & FV Combo-Ergebnis heterozygot



Xpert FII & FV Combo-Ergebnisse normal



Xpert FII & FV Combo-Ergebnisse homozygot



Gründe für eine Wiederholung des Assays

- Das Ergebnis UNGÜLTIG (INVALID) bedeutet, dass die interne Probenverarbeitungskontrolle (SPC) fehlgeschlagen ist. Die Probe wurde nicht sachgemäß bearbeitet oder die PCR wurde gehemmt.
- Das Ergebnis „FEHLER“ (ERROR) bedeutet, dass der Assay abgebrochen wurde. Mögliche Gründe hierfür sind: Das Reaktionsgefäß wurde unsachgemäß befüllt, es wurde ein Problem mit der Integrität der Reagenziensonde festgestellt, der Grenzwert für den Maximaldruck wurde überschritten oder eine Systemkomponente ist ausgefallen.
- „KEIN ERGEBNIS“ (NO RESULT) bedeutet, dass nicht genügend Daten erfasst wurden. Beispielsweise hat der Bediener einen laufenden Test abgebrochen, es ist ein Ladefehler aufgetreten, die Software wurde vorzeitig beendet oder es ist zu einem Stromausfall gekommen.

UNGÜLTIG (INVALID)

Test Result

INVALID

Vorliegen oder Abwesenheit von normalen oder mutierten Faktor-II- und Faktor-V-Allelen ist nicht zu bestimmen.

- Sondenprüfung – BEST. (Probe Check – PASS); alle Ergebnisse der Sondenprüfung waren erfolgreich.
- UNGÜLTIG (INVALID) – Vorliegen oder Abwesenheit von normalen oder mutierten Faktor-II-/Faktor-V-Allelen ist nicht zu bestimmen:
 - Es hat keine Amplifikation stattgefunden.
 - Der kombinatorische Test ergab eine oder gar keine Kurve; das Ergebnis ist ungültig.
 - bei seltenen Faktor-V-Mutationen (A1696G, G1689A und A1692C)

FEHLER (ERROR)

Test Result

ERROR

Vorliegen oder Abwesenheit von normalen oder mutierten Faktor-II- und Faktor-V-Allelen ist nicht zu bestimmen.

- FEHLER (ERROR)
- Sondenprüfung – DEFEKT (Probe Check – FAIL)*; ein oder mehrere Sondenprüfungsergebnisse sind fehlgeschlagen.
 - Die Sondenprüfungskontrolle ist fehlgeschlagen und der Assay wurde abgebrochen, weil möglicherweise ein Reaktionsbehälter unzureichend gefüllt war,
 - Es wurde ein Problem mit der Integrität der Sonden festgestellt.
 - Fehler können auch durch Überschreiten der Druckgrenzen auftreten.
 - Ausfall einer Systemkomponente

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

KEIN ERGEBNIS (NO RESULT)

Test Result

NO RESULT

Vorliegen oder Abwesenheit von normalen oder mutierten Faktor-II- und Faktor-V-Allelen ist nicht zu bestimmen.

- KEIN ERGEBNIS (NO RESULT)
- Sondenprüfung – KA (Probe Check – NA) (Keine Angabe)
- 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).

Xpert FII & FV Testwiederholung

1



Die gebrauchte Kartusche entsorgen.

Zur Entsorgung der Kartuschen die Sicherheitsvorschriften der jeweiligen Einrichtung befolgen.

2



Restprobe beschaffen.

Wenn das restliche Probenvolumen nicht ausreicht oder das Ergebnis im Wiederholungstest erneut UNGÜLTIG (INVALID), FEHLER (ERROR) oder KEIN ERGEBNIS (NO RESULT) lautet, eine neue Probe entnehmen.

3



Eine neue Kartusche beschaffen.

Neue Kartusche entsprechend als Wiederholungstest kennzeichnen.

Die Probe gemäß Packungsbeilage bearbeiten.

4



Den Test auf dem System durchführen.



Faktoren mit möglichem negativen Einfluss auf die Ergebnisse

- Blutproben von Patienten, die mit Heparin oder Bluttransfusionen behandelt werden, können die PCR-Ergebnisse potenziell stören und zu ungültigen oder fehlerhaften Ergebnissen führen.
- Eine unsachgemäße Lagerung entnommener Proben kann das Ergebnis beeinflussen.
 - Darauf achten, dass die Probe gut vermischt ist und nicht viele Einfrier-Auftau-Zyklen durchlaufen hat.
 - Prüfen, ob das korrekte Blutvolumen in die Probenkammer zugegeben wurde.
- Bei Vollblutproben, die einen Einfrier-Auftau-Zyklus durchlaufen haben (hämolysiertes Blut), wurde keine Hemmung beobachtet.
- Zwischen gepaarten Proben, die in EDTA- bzw. Natriumcitrat gezogen wurden, wurde keine statistische Signifikanz beobachtet.

Technischer Kundendienst

- Cepheid bietet technischen Kundendienst vor Ort, am Telefon, per Fax und per E-Mail.
- Die Kontaktinformationen weiterer Geschäftsstellen von Cepheid finden Sie unter <http://www.cephheid.com/support>
 - Kontaktinformationen finden Sie unter dem Link „Kontaktaufnahme“ (Contact Us).
 - Sie können auch ein Onlineformular ausfüllen, um eine Supportanfrage zu erstellen.
- 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-Kennnummer (Service Tag) des Computers

Vielen Dank.

www.Cepheid.com

