

cobas[®] Factor II and Factor V Test

Kasutamiseks *in vitro* diagnostikas



cobas[®] Factor II and Factor V Test

96 Tests

P/N: 07948352190

SISUKORD

Sihtotstarve	4
Testi kokkuvõte ja selgitus	4
Taust.....	4
Protseduuri põhimõtted	4
Proovi ettevalmistamine.....	4
PCR-amplifikatsioon	5
Materjalid ja reaktiivid.....	7
Komplekti kuuluvad materjalid ja reaktiivid.....	7
Reaktiivide säilitamine ja käitlemine	7
Vajalikud lisamaterjalid.....	8
Vajalikud seadmed ja tarkvara, mida kaasas ei ole	8
Ettevaatusabinõud ja käitlemise nõuded	8
Hoiatused ja ettevaatusabinõud	8
Hea laboritava	9
Saastumine	9
Terviklikkus.....	9
Utiliseerimine	10
Mahavoolamine ja puhastamine	10
Proovide võtmine, transport ja säilitamine	10
Proovide võtmine ja käitlemine	10
Proovide transportimine, säilitamine ja stabiilsus.....	10
Töödeldud proovide säilitamine ja stabiilsus	11
Testiprotseduur	11
Testi teostamine.....	11
Kasutusjuhised	12
Tööseeria maht	12
DNA eraldamine	12
Amplifikatsioon ja tuvastamine	12
Instrumendi seadistamine.....	13
Reaktsiooni seadistamine	14
Plaadi ettevalmistamine.....	15
PCR-i alustamine.....	15

Tulemused	16
Tulemuste tõlgendamine.....	16
Kehtetute tulemustega proovide uuesti testimine	16
Kvaliteedikontroll ja tulemuste kehtivus	16
Tulemuste lippude loend.....	17
Meetodi piirangud.....	18
Mittekliinilise toimivuse hindamine	19
Analüütiline tundlikkus.....	19
DNA sisendi ülemine piir	20
DNA eraldamise reprodutseeritavus	20
Analüütiline spetsiifilisus	21
Segavat mõju avaldavad ained	21
Eri partiide vaheline korratavus	22
Kliinilise toimivuse hindamine	23
Meetodite vaheline korrelatsioon: võrdlus Sangeri sekveneerimisega	23
Reprodutseeritavus.....	24
Lisateave	26
Sümbolid.....	26
Tehniline tugi.....	27
Tootja, maaletooja ja turustaja	27
Kaubamärgid ja patendid	27
Autoriõigus.....	27
Viited.....	28
Dokumendi redaktsioon	29

Sihtotstarve

Faktori II ja faktori V analüüs cobas® Factor II and Factor V Test on *in vitro* diagnostiline analüüs, mis kasutab reaalaaja polümeraasi ahelreaktsiooni (PCR) inimese faktori II (protrombiin) G20210A mutatsiooni ja faktori V Leideni mutatsiooni tuvastamiseks ja genotüpiseerimiseks K₂EDTA-ga täisvere proovidest eraldatud DNA-st. Analüüs on ette nähtud abivahendiks trombofiilia kahtlusega patsientide diagnoosimisel. Faktori II ja V analüüs cobas® Factor II and Factor V Test ja analüsaator cobas z 480 on ette nähtud koos kasutamiseks, automaatseks amplifikatsiooniks ja määramiseks.

Testi kokkuvõte ja selgitus

Taust

Trombofiilia on seisund, mille korral on kas päriliku või omandatud defekti tõttu vere hüübimissüsteemis eelsoodumus tromboosi (näiteks trombide) tekkeks. Trombid võivad tekkida nii vere venoosses kui ka arteriaalses vereringes ja võivad põhjustada süvaveenitromboosi (*Deep Vein Thrombosis* – DVT) ja kopsuembooliat (*Pulmonary Embolism* – PE). DVT ja PE on koos tuntud kui venoosne tromboembolia (*Venous Thromboembolism* – VTE).¹ VTE on ägeda koronaarsündroomi ja insuldi järel kolmas levinum surma põhjustav südame veresoonekonna haigus.²

Pärilikku trombofiiliat põhjustavad kõige sagedamini mutatsioonid faktori V või faktori II (protrombiini) geenides. Leideni mutatsioon on üksikpunktmutatsioon (G asendub A-ga positsioonis 1691, G1691A) faktori V kodeerivas geenis, mille tõttu on faktori V valgus positsioonis 506 arginiin asendunud glutamiiniga (R506Q). Leideni mutatsiooni tõttu on faktori V valk resistentsem aktiveeritud valgu C (APC) inaktiveerimise suhtes. APC resistentsust peetakse kõige levinumaks VTE-ga seonduvaks hüübimise häireks.^{3,4} Geneetilised uuringud on näidanud, et Leideni mutatsioon, mille esinemissagedus tavarahvastikus on suhteliselt kõrge (näiteks umbes 5% euroopiidse rassi seas), võib põhjustada 85% kuni 95% APC resistentsuse juhtudest.⁴ Lisaks faktori V G1691A mutatsioonile soovitatakse testimist ka faktori II G20210A (G on asendunud A-ga positsioonis 20210) suhtes, sest vastav mutatsioon on levinud 1–3% tavarahvastikus ja varem on näidatud selle olulist rolli VTE puhul.^{5–7} Patsiendi faktori II ja faktori V genotüpiseerimine päriliku trombofiilia riski väljaselgitamiseks on väga oluline trombofiiliaga patsientide diagnoosimisel ja kliinilisel jälgimisel.

Protseduuri põhimõtted

Faktori II ja V analüüs cobas® Factor II and Factor V Test kasutab reaalaaja PCR-i K₂EDTA katsutitesse kogutud täisvere proovidest eraldatud DNA-st faktori II positsiooni 20210 ja/või faktori V positsiooni 1691 genotüpiseerimiseks. Analüüs tehakse analüsaatoriga cobas z 480. Iga katseseeria sisaldab katseseeria kehtivuse kinnitamiseks positiivset (F2F5 PC) ja negatiivset (F2F5 NC) kontrolli.

Proovi ettevalmistamine

Genoomse DNA eraldamiseks K₂EDTA-ga täisvere proovidest võib kasutada DNA eraldusmeetodeid, mille DNA saagis on piisava kontsentratsiooniga ($\geq 0,1$ ng/ μ l).

PCR-amplifikatsioon

Sihtmärgi valik

Faktori II ja V analüüs **cobas**® Factor II and Factor V Test sisaldab kahte PCR-i praimeripaari, mis amplifitseerivad 173 aluspaari pikkuse faktori II ja 233 aluspaari pikkuse faktori V geenilõigu, mis sisaldavad vastavalt faktori II (protrombiin) ja faktori V Leideni mutatsioone. Iga geeni puhul amplifitseeritakse nii metsiktüüpi kui ka mutatsiooniga alleel.

Sihtmärgi amplifikatsioon

Nii faktori II kui ka faktori V sihtmärkregioonide amplifitseerimiseks kasutatakse liigi *Thermus* Z05 DNA polümeraasi ja PCR praimereid. Esmalt kuumutatakse PCR-segu genoomse DNA denatureerimiseks ja praimeri sihtmärkjärjestuste avamiseks. Segu jahtudes seonduvad praimerid faktori II ja faktori V kodeerivatele ja mittekodeerivatele DNA sihtmärkjärjestustele. Divalentsete metalli kationide ning desoksüribonukleotiidide (dNTP) juuresolekul pikendab Z05 DNA polümeraas seondunud praimereid, kasutades sihtmärk DNA-d matriitsina. Sellega lõpeb PCR-i esimene tsükkel, saadakse faktori II ja faktori V sihtala DNA kaksikahelaga DNA-koopiad (amplikonid). Seda protsessi korratakse mitme tsükli vältel, iga tsükliga kahekordistatakse faktori II ja faktori V sihtmärkregioonide DNA kogust.

Automaatne reaalaajaline genotüpiseerimine

Faktori II ja V analüüs **cobas**® Factor II and Factor V Test kasutab reaalaaja PCR-i tehnoloogiat faktori II positsiooni 20210 ja faktori V positsiooni 1691 genotüpiseerimiseks. Reaktsioon sisaldab nelja oligonukleotiidset sondi, millest kaks on faktori II (G20210A mutatsiooniga ja metsiktüüpi järjestus) ja kaks faktori V (G1691A mutatsiooniga ja metsiktüüpi järjestus) määramiseks. Iga reaktsioonis osalev oligonukleotiidsond on märgistatud reporterina toimiva fluorestsentsvärviga ja kustutusmolekuliga, mis neelab (kustutab) intaktses sondis reporteri fluorestsents emissiooni. Iga amplifikatsioonitsükli käigus seonduvad sondid paljundatava DNA komplementaarsete regioonidega ja neid lõikab Z05 DNA polümeraas 5'-3' suunalise nukleaaesse aktiivsusega. Metsiktüüpi ja mutatsiooniga sonde lõigatakse ainult sellisel juhul, kui nad on seondunud vastavatele metsiktüüpi või mutantsetele faktori II ja faktori V järjestustele.

Sondi molekulide lõikamine võimaldab reportervärvil eralduda kustutusmolekulist, mille tulemusena on reportervärvi fluorestseeruvat signaali võimalik reaktsiooniseгу sobiva lainepikkusega valgustades mõõta. Faktori II ja faktori V metsiktüüpi ja mutatsiooniga sondid on märgistatud erinevate reportervärvidega. Mõne reportervärvi suurenenud fluorestseeruva signaali tuvastamine reaalaaja PCR-i reaktsiooni käigus näitab, et reaktsiooniseгу leidub sellele värvile vastav faktori II või faktori V alleel. Faktori II ja faktori V genotüübid määratakse vastavalt iga geeni määratud alleelide esinemisele. Kui geeni puhul tuvastatakse nii metsiktüüpi kui ka mutatsiooniga alleel, siis on vastav genotüüp heterosügootne. Kui tuvastatakse ainult metsiktüüpi või mutatsiooniga alleel, siis on genotüüp vastavalt kas metsiktüüpi homosügootne või mutantne homosügootne. Kui faktori II või faktori V puhul ei tuvastata ei metsiktüüpi ega mutatsiooniga alleeli, siis on tulemus mõlema geeni jaoks kehtetu.

Selektiivne amplifikatsioon

Sihtmärknukleiinhapete selektiivne amplifikatsioon proovis on faktori II ja V analüüsis cobas® Factor II and Factor V Test lahendatud AmpErase-ensüümi (uratsiil-N-glükosülaasi) ja desoksüuridiintrifosfaadi (dUTP) abil.⁸ AmpErase-ensüüm tunneb ära ja lagundab desoksüuridiini sisaldavad DNA ahelad, jättes puutumata tümidiini sisaldava DNA. Looduslikus DNA-s desoksüuridiini ei leidu, aga dUTP kui ühe nukleotiidtrifosfaadi kasutamise tõttu põhiseigus desoksütümidiin-trifosfaadi asemel leidub seda alati amplikonis – seetõttu sisaldab desoksüuridiini ainult amplikoni DNA. Desoksüuridiin võimaldab amplikonilisandi enne sihtmärk-DNA amplifikatsiooni AmpErase'i abil lõhkuda. Põhisegureaktiivis sisalduv AmpErase-ensüüm katalüüsib desoksüuridiini sisaldava DNA lõhustamist desoksüuridiinijääkide juures, avades desoksü-riboosahela C1-asendis. Amplikoni DNA ahel laguneb kuumutamisel aluselise pH korral esimeses termilise tsükli etapis desoksüuridiini kohalt, muutes DNA mitteamplifitseeritavaks. AmpErase-ensüüm on inaktiivne temperatuuril üle 55 °C, st termiliste tsüklite etappides, ega löhu sihtamplikoni.

Materjalid ja reaktiivid

Komplekti kuuluvad materjalid ja reaktiivid

Komplekt	Reaktiivid ja koostisosad	Kogus ühes testis	Ohutussümbol ja hoiatus ^a
cobas® Factor II and Factor V Test 96 testi (P/N: 07948352190)	F2F5 MMX (kuldse nupuga kork) (faktori II ja faktori V põhisegu) Termostabiilne DNA polümeraas, AmpErase (uratsiil-N-glükosülaas), oligonukleotiidsed PCR praimerid, fluorestseeruva märgisega oligonukleotiidsed sondid, desoksütrinukleotiidid, glütserool, dimetüülsulfoksiid, mitte-ioonse detergent ja 0,09% naatriumasiid	4 × 0,6 ml	N/A
	F2F5 COFACTOR (sinakasroheline nupuga kork) (faktori II ja faktori V kofaktor) Mangaanatsetaat, magneesiumatsetaat, veise seerumi albumiin ja 0,09% naatriumasiid	4 × 0,15 ml	Pole kohaldatav – ei ole ohtlik aine või segu. EUH210 Ohutuskaart nõudmisel kättesaadav.
	F2F5 PC (punase nupuga kork) (faktori II ja faktori V positiivne kontroll) Mittenakkuslikud nukleiinhapped puhverdatud lahuses, mis sisaldab 0,05% naatriumasiidi	4 × 0,05 ml	N/A
	F2F5 NC (sinise nupuga kork) (faktori II ja faktori V negatiivne kontroll) Puhverdatud lahus, mis sisaldab 0,05% naatriumasiidi	4 × 0,4 ml	N/A

^a Toote ohutusmärgised järgivad standardi EU GHS juhiseid.

Reaktiivide säilitamine ja käitlemine

Komplekt	Säilitamistemperatuur	Säilitamisaeg
cobas® Factor II and Factor V Test	2...8 °C	Pärast vähemalt ühe komplekti reaktiivi avamist püsib see stabiilsena kuni kaks kasutuskorda 90 päeva jooksul või kuni aegumistähtajani, kui see saabub varem.

Märkus. Ärge külmutage reaktiive.

Vajalikud lisamaterjalid

Materjalid	P/N
Valgendaja	Iga tarnija
70%-line etanool	Iga tarnija
cobas ® 4800 süsteemi mikrotiiterplaat (AD-plaat) ja kinnituskile	Roche 05232724001
cobas ® 4800 süsteemi kinnituskile aplikaator (tarnitakse cobas ® 4800 süsteemi paigaldamisel)	Roche 04900383001
Reguleeritavad pipetid* (mahuga 5–1 000 µl)	Iga tarnija
Aerosoolitõkkega varustatud või DNAasi-vabad kolbotsikud pipeteerijale	Iga tarnija
Laua-mikrotsentrifuug* (võimsusega 20 000 × g)	Eppendorfi mudel 5430 või 5430R või samaväärne
Mikrotsentrifuugi katsutid (1,5 ml RNAasi-/DNAasi-vaba/PCR grade)	Life Technologies'i mudel AM12400 või Eppendorfi mudel 022364120 või samaväärne
Katsutiretid koonilistele katsutitele ja mikrotsentrifuugi katsutitele	Iga tarnija
Vortex-segisti*	Iga tarnija
Ühekordselt kasutatavad talgivabad kindad	Iga tarnija

* Kõiki seadmeid tuleb hoida nõuetekohases korras vastavalt tootja juhistele.

Lisateavet eraldi müüdavate materjalide kohta küsige kohalikult Roche'i esindajalt.

Vajalikud seadmed ja tarkvara, mida kaasas ei ole

Vajalikud seadmed ja tarkvara, ei ole kaasas
Analüsaator cobas z 480
Süsteemi cobas ® 4800 juhtimisseade, mille tarkvaraversioon on 2.2 või uuem
Faktori II ja faktori V analüüsipaketi tarkvaraversioon 1.0 või uuem
Väline USB-võõtkoodilugeja
Printer (nt HP P2055d)

Lisateavet eraldi müüdavate materjalide kohta küsige kohalikult Roche'i esindajalt.

Ettevaatusabinõud ja käitlemise nõuded

Hoiatused ja ettevaatusabinõud

Nagu kõigi testiprotseduuride puhul, on selle analüüsi toimimise eelduseks hea laboritava.

- Kasutamiseks ainult *in vitro* diagnostikas.
- Ohutuskaardid (SDS) on saadaval kohalikus Roche esinduses.
- Kõiki proove tuleb käsitada kui nakkusohtlikke, rakendades väljaandes Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories⁹ ja CLSI dokumendis M29-A4 kirjeldatud laboriohutuseeskirju.¹⁰
- Soovitav on kasutada ühekordselt kasutatavaid pipette ja DNAasi-vabu pipetiotsikuid.
- Teavitage selle analüüsi kasutamisel toimunud tõsistest vahejuhtumitest kohalikku pädevat asutust.

Hea laboritava

- Suu abil mitte pipeteerida.
- Ärge sööge, jooge ega suitsetage laboris.
- Pärast proovide ja komplektireaktiivide käsitlemist tuleb hoolikalt käsi pesta.
- Mis tahes reaktiivide käsitlemisel tuleb kanda kaitseprille, laborikitlit ja ühekordselt kasutatavaid kindaid. Väldige materjalide kokkupuudet naha, silmade ja limaskestadega. Kokkupuute korral tuleb kokkupuutekohta kohe rohke veega pesta. Vastasel korral võivad tekkida põletushaavad. Mahavoolamise korral tuleb mahavoolanud kogus enne puhtakspühkimist veega lahjendada.
- Kõik labori tööpinnad tuleb põhjalikult puhastada ja desinfitseerida destilleeritud või deioniseeritud vees värskest valmistatud 0,5% naatriumhüpokloriti lahusega (lahjendada olmepleegitusvedelikku vahekorras 1:10). Seejärel tuleb pind üle pühkida 70% etanooliga.

Märkus. Müügil olevad olmepleegitusvedelikud sisaldavad üldjuhul 5,25% naatriumhüpokloritit. Lahjendades olmepleegitusvedelikku vahekorras 1:10, saadakse naatriumhüpokloriti 0,5% lahus.

Saastumine

- Proovide ning faktori II ja V analüüsi cobas® Factor II and Factor V Test reaktiivide käsitlemisel tuleb saastumise vältimiseks kanda kindaid. Proovide käsitlemisel tuleb vältida kinnaste saastumist.
- Kindaid tuleb vahetada enne DNA eraldamise aladest lahkumist või kui on alust kahtlustada kokkupuudet lahuse või prooviga.
- Väldige reaktiivide saastumist mikroobidega.
- Amplifitseerimise ja tuvastamise tööala tuleb enne tööpõhise ettevalmistamist põhjalikult puhastada. Iga operatsiooni jaoks tuleb kasutada eraldi varusid ja seadmeid, mida ei tohi kasutada muude operatsioonide jaoks ega viia muudesse tööpiirkondadesse. Näiteks ei tohi DNA eraldamiseks mõeldud pipette ja varusid kasutada amplifitseerimiseks ja tuvastamiseks ette nähtud reaktiivide ettevalmistamiseks.
- Soovitav on korraldada labori tööprotsessid ühesuunaliselt, lõpetades ühe tegevuse enne järgmise juurde asumist. Näiteks DNA eraldamine tuleb teostada enne amplifitseerimise ja tuvastamise alustamist. DNA eraldamine tuleb teostada alal, mis on eraldatud alast, kus toimub amplifitseerimine ja tuvastamine. Tööpõhise saastumise vältimiseks DNA-proovidega, tuleb amplifitseerimise ja tuvastamise ala enne tööpõhise ettevalmistamist põhjalikult puhastada.

Terviklikkus

- Ärge kasutage komplekte pärast kõlblikkusaja lõppu.
- Ärge segage kokku eri komplektidest või partiidest pärit reaktiive.
- Ärge kombineerige erinevate partiide komplektide reaktiiviviale.
- Ärge kasutage ühekordselt kasutatavaid esemeid pärast nende aegumistähtaega.
- Kõik tarvikud on mõeldud ühekordseks kasutamiseks. Mitte kasutada korduvalt!
- Ärge kasutage reaktiive ega mahuteid, mis on nähtavalt kahjustunud või millel esineb lekkimise tunnuseid.
- Kõiki seadmeid tuleb hoida nõuetekohaselt tootja juhiste järgi.

Utiliseerimine

- F2F5 MMX, F2F5 COFACTOR, F2F5 PC ja F2F5 NC sisaldavad naatriumasiidi. Naatriumasiid võib reageerida pliist ja vasest torustikuga, moodustades plahvatusohtlike metalliasiide. Naatriumasiidi sisaldavate lahuste labori kraanikausist allavalamise korral tuleb asiidi kogunemise vältimiseks torusid uhtuda suure koguse külma veega.
- Kasutamata reaktiivid ja jäägid tuleb kõrvaldada kooskõlas föderaalsete, riiklike ja kohalike nõuetega.

Mahavoolamine ja puhastamine

- Kui mahavoolanud vedelik sisaldab nakkusohtlikke materjale, tuleb sellega kokkupuutunud pinda puhastada esmalt laboripesuvahendi ja veega ning seejärel 0,5% naatriumhüpokloritiga.
- Kui instrumendile cobas® 4800 satub pritsmeid, järgige süsteemi cobas® 4800 kasutusjuhendi puhastusjuhiseid.
- Ärge kasutage analüsaatori cobas z 480 puhastamiseks naatriumhüpokloritilahust (pleegitusvedelikku). Järgige analüsaatori cobas z 480 puhastamisel süsteemi cobas® 4800 kasutusjuhendis kirjeldatud toiminguid.
- Täiendavad hoiatused, ettevaatusabinõud ja toimingud analüsaatori cobas z 480 saastumisohu vähendamiseks leiate süsteemi cobas® 4800 kasutusjuhendist.

Proovide võtmine, transport ja säilitamine

Märkus. Kõiki proove tuleb käsitada potentsiaalselt nakkusohtlikena.

Proovide võtmine ja käitlemine

Faktori II ja V analüüs cobas® Factor II and Factor V Test on välja töötatud kasutamiseks genoomse DNA-ga, mis on eraldatud hüübimist takistava K₂EDTA-ga täisvere proovidest. Täisvere proovidest eraldatud DNA-d võib analüüsida koheselt või säilitada vastavalt kasutatud DNA eralduskomplekti juhistele.

Proovide transportimine, säilitamine ja stabiilsus

K₂EDTA-ga täisvere proove võib transportida temperatuurivahemikus 2–30 °C või külmutatuna (Tab. 1). Faktori II ja V analüüsi cobas® Factor II and Factor V Test tulemused ei muutunud täisvere proovide korral, mida külmutati ja sulatati kuni kolm korda. Täisvere proovide transportimisel tuleb järgida nakkusohtlike materjalide transpordi föderaalset, riiklikke ja kohalikke nõudeid.¹¹

Tab. 1 Täisvere stabiilsus

Täisvere säilitamistemperatuur	15...30 °C	2...8 °C	-15...-25 °C
Säilitamisaeg	Kuni 3 päeva	Kuni 7 päeva	Kuni 6 nädalat

Töödeldud proovide säilitamine ja stabiilsus

Hüübimist takistava K₂EDTA-ga täisverest eraldatud genoomset DNA-d võib analüüsida koheselt või säilitada vastavalt DNA eralduskomplekti tootja juhiste. Eraldatud DNA tuleb ära kasutada soovitusliku säilitusaja jooksul või enne DNA eraldamiseks kasutatud komplekti aegumistähtaega, kui see saabub varem. Asutusesisese analüüsimise kohaselt on genoomse DNA stabiilsus toetatud juhtudel nagu on näidatud jaotises Tab. 2. Enne säilitatud genoomse DNA kasutamist segage proovi sisaldavat katsutit vortex-segistil. Faktori II ja V analüüsi cobas® Factor II and Factor V Test tulemused ei muutunud genoomse DNA proovide korral, mida külmutati ja sulatati kuni kolm korda.

Tab. 2 Genoomse DNA stabiilsus

Ekstraheeritud DNA säilitamistemperatuur	2...8 °C*	-15...-25 °C*
Säilitamisaeg	Kuni 7 päeva	Kuni 6 nädalat

* Andmed on saadud, kasutades kolme müügil olevat DNA eraldamise meetodit.

Testiprotseduur

Testi teostamine

Tab. 3 Faktori II ja V analüüsi cobas® Factor II and Factor V Test töö käik

1	Kui DNA ei ole täisvere proovidest eraldatud, siis eraldage DNA
2	Võtke säilituskohast DNA proovid ja analüüsi reaktiivid
3	Käivitage süsteem cobas® 4800
4	Tehke instrumendi hooldus
5	Looge Work Order ja printige plaadi paigutus
6	Valmistage amplifikatsiooni reaktiivid
7	Pange amplifikatsiooni reaktiivid mikrotiiterplaadile
8	Pange proovid ja kontrollid mikrotiiterplaadile
9	Sulgege mikrotiiterplaat
10	Pange mikrotiiterplaat cobas z 480 analüsaatorisse
11	Käivitage tööseeria
12	Vaadake tulemused üle
13	LIS-i kasutades: saatke tulemused LIS-i
14	Võtke materjalid analüsaatorist välja

Kasutusjuhised

Märkus. Analüsaatori cobas z 480 üksikasjalikke kasutusjuhiseid vt süsteemi cobas® 4800 kasutusjuhendist.

Tööseeria maht

Üks tööseeria võib hõlmata üks kuni 94 proovi ja kaks kontrollproovi 96 auguga mikrotiiterplaadi kohta. Faktori II ja V analüüsikomplekt **cobas®** Factor II and Factor V Test sisaldab piisavalt reaktiive 96 proovi analüüsimiseks kuni kaheksas tööseerias reaktiivikomplekti kohta.

DNA eraldamine

1. Eraldage genoomne DNA hüübimist takistava K₂EDTA-ga täisvere proovidest, kasutades DNA eraldusmeetodeid, mille DNA saagis on piisava kontsentratsiooniga ($\geq 0,1$ ng/ μ l) ning produkt on selge ja värvitu.
2. **F2F5 NC** võib saastuse kontrollimiseks kaasata DNA eraldamise protsessi või võib seda kasutada otse, töötlemata faktori II ja V analüüsis **cobas®** Factor II and Factor V Test.
3. **F2F5 PC** proovi kasutatakse faktori II ja V analüüsis **cobas®** Factor II and Factor V Test ilma DNA eraldusprotseduurita. Ärge teostage **F2F5 PC** DNA eraldust.
4. Eraldatud genoomset DNA-d võib analüüsida kohe faktori II ja V analüüsiga **cobas®** Factor II and Factor V Test või säilitada vastavalt DNA eralduskomplekti tootja juhiste.

Amplifikatsioon ja tuvastamine

Märkus. Tööpõhise saastumise vältimiseks DNA-proovidega tuleb amplifitseerimist ja tuvastamist teha DNA eraldamisest eraldi alal. Amplifitseerimise ja määramise tööala tuleb enne tööpõhise ettevalmistamist põhjalikult puhastada. Õigeks puhastamiseks tuleb kõiki pindu (sh reste ja pipette) põhjalikult puhastada 0,5% naatriumhüpokloritilahusega ja seejärel 70% etanoolilahusega. Müügil olevad olmepleegitusvedelikud sisaldavad üldjuhul 5,25% naatriumhüpokloritit. Lahjendades olmepleegitusvedelikku vahekorras 1:10, saadakse naatriumhüpokloriti 0,5% lahus.

Töö tellimus ja plaadi paigutus

Vastava töö etappide kohta saate täpsemat teavet **süsteemi cobas® 4800 kasutusjuhendist**.

Koostage töö jaoks tellimus ja plaadikaart kõikide selle tööseeria proovide ja kontrollproovidega. **F2F5 PC** laaditakse plaadi positsiooni A01 ja **F2F5 NC** laaditakse plaadi positsiooni B01. Seejärel lisatakse genoomse DNA proovid, alustades positsioonist C01 kuni H01 ja positsioonist C02 kuni H02 (vt Tab. 4).

Tab. 4 Faktori II ja V analüüsi cobas® Factor II and Factor V Test plaadi paigutus

Rida / veerg	01	02	03	04	05	06	07	08	09	10	11	12
A	PC ^a	S7	S15	S23	S31	S39	S47	S55	S63	S71	S79	S87
B	NC ^b	S8	S16	S24	S32	S40	S48	S56	S64	S72	S80	S88
C	S1 ^c	S9	S17	S25	S33	S41	S49	S57	S65	S73	S81	S89
D	S2	S10	S18	S26	S34	S42	S50	S58	S66	S74	S82	S90
E	S3	S11	S19	S27	S35	S43	S51	S59	S67	S75	S83	S91
F	S4	S12	S20	S28	S36	S44	S52	S60	S68	S76	S84	S92
G	S5	S13	S21	S29	S37	S45	S53	S61	S69	S77	S85	S93
H	S6	S14	S22	S30	S38	S46	S54	S62	S70	S78	S86	S94

^a PC = **F2F5 PC**

^b NC = **F2F5 NC**

^c S = proov

Instrumendi seadistamine

- Lülitage sisse **cobas z 480** analüsaator. Enne tööseria alustamist peab instrument paar minutit soojenema.
- Lülitatakse sisse juhtimisseade. Juhtimisseade logib automaatselt Windowsi sisse.
- Topeltklõpsake tarkvara **cobas® 4800** ikooni ja logige sisse, et teostada tööseria ettenähtud labori kasutajanime ja parooliga.
- Klõpsake menüüs ikooni „New Run”.
- Avaneb hüpikaken „Select Test”. Valige töövoog tüüp „PCR Only”, seejärel „F2F5” ja vajutage nuppu „OK”.
- Kui avaneb kuva „Work Place”, vajutage väljal „Microwell Plate ID” ja sisestage või skannige mikrotiiterplaadi nimesildil olev MWP-võtkood. Soovi korral sisestage kommentaarid väljale „Comments”.
- Vajutage esimese komplekti võtkoodi real väljale „F2F5 Test Kit-ID” ja sisestage või skannige faktori II ja V analüüsi **cobas® Factor II and Factor V Test ID** võtkood. Samal real paikneval väljal „Specimen” sisestage tööserias analüüsitavate proovide arv.
 - Kui kasutate sama partii ühte komplekti, võite sisestada esimesele komplekti võtkoodi reale kuni 94 proovi (2 tulemust on reserveeritud **F2F5 PC** ja **F2F5 NC** jaoks).
 - Kui kasutate sama partii mitut erinevat komplekti (kuni 4 komplekti), sisestage faktori II ja V analüüsi **cobas® Factor II and Factor V Test** partii ID võtkood väljale „F2F5 Test Kit-ID” ja väljale „Specimen” sisestage vastava komplektiga analüüsitavate proovide arv. Kasutage iga rea kohta ühte komplekti võtkoodi.
 - Ühel AD-plaadil on võimalik korraga analüüsida maksimaalselt 94 proovi ja 2 kontrolli.
- Kontrollide positsioonide (A01 ja B01) jaoks luuakse „Sample ID” automaatselt. Sisestage või skannige iga proovi ID veergu proovi „Sample ID”. Iga tööserias kasutatav proovi ID peab olema unikaalne. Väljad „Kit” ja „Sample Type” täidetakse automaatselt.
- Valige iga proovi jaoks „Requested Result”: „F2” ainult faktori II jaoks, „F5” ainult faktori V jaoks ja „F2F5” nii faktori II kui ka faktori V jaoks.

10. Soovi korral võite iga proovi kohta lisada kommentaare.
11. Kui kogu teave on sisestatud, vajutage ekraani alumises paremas nurgas paiknevat nuppu „Save”.
12. Salvestage fail tarkvara määratud vaikenimega.
13. Printige tööseeria plaadi paigutus kõikide proovide ja kontrollproovide aukudega, klõpsates nuppu „Print” ja valides „File -> Print” aknas „Preview”. Täitke plaat alati veergude kaupa, alustades kontrollist **F2F5 PC** positsioonis A01 ja kontrollist **F2F5 NC** positsioonis B01. Märkige plaadikaardile proovid alates august C01 ja jätkake alla kuni auguni H01. Seejärel jätkake aukudega A02 kuni H02 ja A03 kuni H03, kuni kõik proovid on kaardile märgitud.

Reaktsiooni seadistamine

Tööpõhisegu valmistamine

Märkus. *F2F5 MMX ja tööpõhisegu MMX (MMX ja COFACTOR) on valgustundlikud ning neid tuleb kaitsta pikaajalise kokkupuute eest valgusega. Tööpõhisegu tuleb säilitada pimedas, temperatuuril 2...8 °C.*

Märkus. *Eraldatud DNA proovid ja kontrollproovid tuleb lisada 1 tunni jooksul alates tööpõhisegu valmistamisest. Amplifikatsiooniga tuleb alustada 1 tunni jooksul alates töödeldud proovide ja kontrollproovide lisamisest tööpõhisegule.*

Märkus. *F2F5 MMX võib olla helesinine/helelilla. See ei mõjuta reaktsiooni toimet.*

1. Arvutage segu **F2F5 MMX** vajalik maht järgmise valemiga:

$$\text{F2F5 MMX vajalik maht} = (\text{proovide arv} + 2 \text{ kontrollproovi} + 1) \times 20 \mu\text{l}$$

2. Arvutage segu **F2F5 COFACTOR** vajalik maht järgmise valemiga:

$$\text{F2F5 COFACTOR vajalik maht} = (\text{proovide arv} + 2 \text{ kontrollproovi} + 1) \times 5 \mu\text{l}$$

Vt Tab. 5, et määrata kindlaks **F2F5 MMX** ja **F2F5 COFACTOR** kogus, mis on vajalik tööpõhisegu MMX valmistamiseks, võttes aluseks katseseeriasse kuuluvate proovide arvu.

Tab. 5 MMX tööpõhisegu jaoks vajalikud reaktsiooni mahud

		Proovide arv ^a						
		1	2	3	6	9	12	24
MMX	20 µl	80	100	120	180	240	300	540
COFACTOR	5 µl	20	25	30	45	60	75	135
MMX tööpõhisegu kogumaht (µl)		100	125	150	225	300	375	675

^a Segude MMX ja COFACTOR mahud vastavalt analüüsitava proovide arvule + 2 kontrolli + 1 lisareaktsioon.

3. Võtke säilitustemperatuurilt 2–8 °C sobiv arv **F2F5 MMX** ja **F2F5 COFACTOR** viaale. Segage iga reaktsiooni 5 sekundit vortex-segistil ja koguge enne kasutamist katsuti põhjast vedelik.
4. Märgistage iga kuni 24 proovist koosneva komplekti tööpõhisegu MMX-i jaoks steriilne mikrotsentrifuugi katsuti.
5. Lisage katsutisse arvutatud kogus reaktsiooni **F2F5 MMX**.
6. Lisage katsutisse arvutatud kogus reaktsiooni **F2F5 COFACTOR**.

7. Segage piisava segamise tagamiseks MMX katsuteid 3–5 sekundit vortex-segistil.

Märkus. *Proovid ja kontrollproovid tuleb lisada mikrotiiterplaadile (AD-plaadile) 1 tunni jooksul alates tööpõhisegu valmimisest.*

Märkus. *Kasutage ainult süsteemi cobas® 4800 mikrotiiterplaati (AD-plaat) ja kinnituskilet.*

Plaadi ettevalmistamine

Märkus. *Säilitatud genoomse DNA proovide kasutamise korral järgige jaotises „Töödeldud proovide säilitamine ja stabiilsus” esitatud juhiseid.*

1. Pipeteerige vastavalt eelnevalt ette valmistatud plaadikaardile igasse tööseerias kasutatavasse mikrotiiterplaadi (AD-plaadi) reaktsiooniauku 25 µl MMX tööpõhisegu. Ärge puudutage pipetiotsikuga plaati väljaspool seda auku.
2. Pipeteerige 25 µl proovi F2F5 PC mikrotiiterplaadi (AD-plaadi) auku A01; segage põhjalikult pipeti abil, aspireerides ja dispenseerides augu sees vähemalt kaks korda.
3. Pipeteerige uue pipetiotsiku abil 25 µl kontrollproovi F2F5 NC mikrotiiterplaadi (AD-plaadi) auku B01; segage põhjalikult pipeti abil, aspireerides ja dispenseerides augu sees vähemalt kaks korda.

Märkus. *Iga tööseeria peab sisaldama kontrollproovi F2F5 PC augus A01 ja kontrollproovi F2F5 NC augus B01. Vastasel juhul annab analüsaator cobas z 480 seeriale kehtetu tulemuse.*

Märkus. *Vahetage vastavalt vajadusele kindaid, et vältida proovide ristsaastumist ja PCR-reaktsiooni katsuti välispinna saastumist.*

4. Kasutades iga proovi jaoks uut pipetiotsikut, kandke vastavalt ette valmistatud plaadikaardile 25 µl igat DNA proovi vastavasse mikrotiiterplaadi (AD-plaadi) auku. Alustage positsioonist C01. Segage igas augus olevat segu pipeti abil, aspireerides ja dispenseerides augu sees vähemalt kaks korda. Veenduge, et kogu vedelik oleks süvendite põhjas.

Märkus. *Segage säilitatud genoomse DNA proove enne kasutamist vortex-segistil.*

5. Katke mikrotiiterplaat (AD-plaat) katekilega (kuulub plaatide tarnekomplekti). Kasutage kinnituskile aplikaatorit, et kinnitada kile kindlalt mikrotiiterplaadi (AD-plaadi) külge.
6. Veenduge enne PCR-i alustamist, et kogu vedelik on süvendite põhjas.

Märkus. *Amplifikatsiooniga tuleb alustada 1 tunni jooksul alates töödeldud proovide ja kontrollproovide lisamisest tööpõhisegule.*

PCR-i alustamine

Vastava töö etappide kohta saate täpsemat teavet süsteemi cobas® 4800 kasutusjuhendist.

Tulemused

Tulemuste tõlgendamine

Märkus. Kõik katseseeria ja proovi valideerimised teeb cobas® 4800 tarkvara.

Märkus. Kehtiv katseseeria võib sisaldada nii kehtivaid kui ka kehtetuid proovide tulemusi.

Nõuetele vastavate tulemustega katseseeria puhul tõlgendatakse proovidega saadud tulemusi vastavalt: Tab. 6.

Tab. 6 Faktori II ja V analüüsi cobas® Factor II and Factor V Test tulemuste tõlgendamine

Katsetulemus	Tõlgendus
WT F2	Genoomse DNA proov on faktori II (protrombiini) suhtes metsiktüüpi (WT). Faktori II geeni mõlema alleeli positsioonis 20210 on G nukleotiid.
HET F2	Genoomse DNA proov on faktori II (protrombiini) suhtes heterosügootne (HET). Faktori II geeni positsioonis 20210 on ühes alleelis G nukleotiid ja teises alleelis A nukleotiid.
MUT F2	Genoomse DNA proov on faktori II (protrombiini) suhtes mutantne (MUT). Faktori II geeni mõlema alleeli positsioonis 20210 on A nukleotiid.
WT F5	Genoomse DNA proov on faktori V (Leideni) mutatsiooni suhtes metsiktüüpi (WT). Faktori V geeni mõlema alleeli positsioonis 1691 on G nukleotiid.
HET F5	Genoomse DNA proov on faktori V (Leideni) mutatsiooni suhtes heterosügootne (HET). Faktori V geeni positsioonis 1691 on ühes alleelis G nukleotiid ja teises alleelis A nukleotiid.
MUT F5	Genoomse DNA proov on faktori V (Leideni) mutatsiooni suhtes mutantne (MUT). Faktori V geeni mõlema alleeli positsioonis 1691 on A nukleotiid.
Invalid	Proovi tulemus on kehtetu. Korrake kehtetute tulemustega proovide testimist vastavalt jaotises „Kehtetute tulemustega proovide uuesti testimine” esitatud juhiste.
Failed	Riist- või tarkvara tõrke tõttu nurjunud katseseeria. Pöörduge tehnilise abi saamiseks Roche'i kohalikku esindusse.

Kehtetute tulemustega proovide uuesti testimine

1. Kui tööseeria on kehtetu, korrake kõikide proovide jaoks kogu testiprotseduuri alates genoomsest DNA-st.
2. Kui tööseeria on kehtiv, aga proovi tulemus(ed) ei ole kehtivad, siis korrake testiprotseduuri kehtetu(te) proov(ide) jaoks alates genoomsest DNA-st. Kui ka kordusanalüüs on kehtetu, siis korrake genoomse DNA eraldamist täisvere proovi(de)st.

Kvaliteedikontroll ja tulemuste kehtivus

Igasse tööseeriasse on kaasatud faktori II ja faktori V cobas® Factor II and Factor V Test kontrollid (F2F5 PC ja F2F5 NC). Tööseeria on kehtiv, kui nii F2F5 PC kui ka F2F5 NC on kehtivad. Kui F2F5 PC või F2F5 NC tulemused on kehtetud, on kogu katseseeria kehtetu ning seda tuleb korrata. Kui F2F5 PC või F2F5 NC kontrollidega saadakse järjepidevalt kehtetuid tulemusi, pöörduge tehnilise abi saamiseks Roche'i kohalikku esindusse.

Tulemuste lippude loend

Tulemuste lipud on leitavad tulemuste vahekaardilt. Lipukood viitab lipu allikale, täpsema teabe jaoks vt Tab. 7. Tab. 8 kirjeldab kõiki lippude tõlgendusi, mis on kasutaja jaoks olulised.

Tab. 7 Lipu allikas

Lipukoodi algus on	Lipu allikas	Näide
M*	Mitmed või teised põhjused	M6
R	Tulemuse tõlgendamine	R20
Z*	Analüsaator	Z1

* Vt süsteemi cobas® 4800 kasutusjuhendit.

Tab. 8 Tulemuste tõlgendamise lippude loend

Lipukood	Raskusaste	Kirjeldus	Soovitav tegevus
R2900, R2904, R2908, R2912	Viga	Positiivne kontroll on kehtetu	Korrake katseseeriat. Vaadake analüüsikohast kasutusjuhendit. Vastavad lipukoodid näitavad, et käänukoha määramise algoritmis esines tõrge. Sellised tõrked võivad esineda ebatüüpilise või müraga fluorestseeruva signaali korral.
R2901, R2905, R2909, R2913	Viga	Positiivne kontroll on kehtetu	Korrake katseseeriat. Vaadake analüüsikohast kasutusjuhendit. Vastavad lipukoodid näitavad, et vähemalt ühes positiivse kontrolli kanalis oli negatiivne tulemus.
R2902, R2906, R2910, R2914	Viga	Positiivne kontroll on kehtetu	Korrake katseseeriat. Vaadake analüüsikohast kasutusjuhendit. Vastavad lipukoodid näitavad, et positiivse kontrolli Ct väärtus oli üle kehtestatud piirväärtuse (st käänukoht liiga kõrge). Selle põhjuseks võib olla: 1. Tööpõhisegu ebakorrektnen valmistamine. 2. Pipeteerimisviga mikrotiiterplaadile tööpõhisegu lisamisel. 3. Pipeteerimisviga mikrotiiterplaadi auku positiivse kontrolli lisamisel.
R2903, R2907, R2911, R2915	Viga	Positiivne kontroll on kehtetu	Korrake katseseeriat. Vaadake analüüsikohast kasutusjuhendit. Vastavad lipukoodid näitavad, et positiivse kontrolli Ct väärtus oli kehtestatud piirväärtusest madalam (st käänukoht liiga madalal). Selline viga võib esineda DNA saastuse korral.
R2916	Viga	Positiivset kontrolli ei tuvastatud	Korrake katseseeriat. Vaadake analüüsikohast kasutusjuhendit. Vastav lipukood näitab, et positiivsel kontrollil oli kõikides kanalites negatiivne tulemus. Kontrolli auku ei ole positiivset kontrolli DNA-d lisatud.
R2917, R2919, R2921, R2923	Viga	Negatiivne kontroll on kehtetu	Korrake katseseeriat. Vaadake analüüsikohast kasutusjuhendit. Vastavad lipukoodid näitavad, et käänukoha määramise algoritmis esines tõrge. Sellised tõrked võivad esineda ebatüüpilise või müraga fluorestseeruva signaali korral.
R2918, R2920, R2922, R2924	Viga	Negatiivne kontroll on kehtetu	Korrake katseseeriat. Vaadake analüüsikohast kasutusjuhendit. Vastavad lipukoodid näitavad, et negatiivse kontrolli tulemus oli positiivne (st toimunud on saastus).
R2925, R2928, R2931, R2934, R2940, R2941, R2942, R2943	Viga	Kehtetu tulemus	Korrake katseseeriat. Vaadake analüüsikohast kasutusjuhendit. Vastavad lipukoodid näitavad, et käänukoha määramise algoritmis esines tõrge. Sellised tõrked võivad esineda ebatüüpilise või müraga fluorestseeruva signaali korral.
R2926, R2929, R2932, R2935	Viga	Kehtetu tulemus	Korrake katseseeriat. Vaadake analüüsikohast kasutusjuhendit. Vastavad lipukoodid näitavad, et proovi Ct väärtus oli ebatüüpiliselt kõrge.
R2927, R2930, R2933, R2936	Viga	Kehtetu tulemus	Korrake katseseeriat. Vaadake analüüsikohast kasutusjuhendit. Vastavad lipukoodid näitavad, et proovi Ct väärtus oli ebatüüpiliselt madal.

Lipukood	Raskusaste	Kirjeldus	Soovitav tegevus
R2937, R2938	Viga	Kehtetu tulemus	Korrake proovi analüüsi. Vaadake analüüsikohast kasutusjuhendit. Vastavad lipukoodid näitavad, et ühe geeni tulemused (kas faktor II või faktor V) ei olnud kehtivad. Mõlema geeni kehtiva tulemuse puudumine eemaldab sisemise kontrolli funktsiooni, mida need geenid teineteise jaoks omavad ja see viitab järgmisele: 1. Proovi genoomse DNA halb kvaliteet. 2. Viga proovi töötlemisel. 3. Proov sisaldab PCR-i inhibiitoreid. 4. Genoomse DNA praimerite ja/või sondide seondumise piirkondades esinevad haruldased mutatsioonid. 5. Ühte või mitmesse auku ei ole lisatud proovi DNA-d. 6. Muud faktorid.
R2939	Viga	Sihtmärki ei tuvastatud	Korrake katseseeriat. Vaadake analüüsikohast kasutusjuhendit. Vastav lipukood näitab, et proovil oli kõikides kanalites negatiivne tulemus. Auku ei ole genoomset DNA-d lisatud.
R2944, R2945	Viga	Kehtetu tulemus	Korrake proovi analüüsi. Vaadake analüüsikohast kasutusjuhendit. Vastav lipukood näitab, et proovi teatavate andmeanalüüsi parameetrite vahel oli ebatüüpiline seos.

Meetodi piirangud

- Kehtivad tulemused sõltuvad genoomse DNA hulgast proovist ja seda võivad mõjutada proovi terviklikkus, eraldatud DNA kontsentratsioon ja segavate ainete juuresolek.
- DNA eraldamise meetodid peaksid olema võimelised tagama selge ja värvitu DNA lahuse kontsentratsiooniga $\geq 0,1$ ng/ μ l.
- Hemoglobiin on PCR-i inhibiitor. Täisverest eraldatud genoomne DNA peaks olema selge ja värvitu. Punased, roosad, roostevärvi või ükskõik millised teistsuguse välimusega proovid peale selge ning värvitu võivad põhjustada kehtetuid või ebaõigeid tulemusi. Selliseid proove ei tohiks analüüsida.
- Tulemuste usaldusväärsus sõltub transportimise, säilitamise ja töötlemise kvaliteedist. Järgige käesolevas kasutusjuhendis ja **süsteemi cobas® 4800 kasutusjuhendis** esitatud juhiseid.
- AmpErase-ensüümi lisamine faktori II ja V analüüsi **cobas® Factor II and Factor V Test** põhisegule võimaldab sihtmärk-DNA-d valikuliselt amplifitseerida. Siiski on reaktiivide saastumise vältimiseks vaja järgida häid laboritöötavasid ja käesoleva kasutusjuhendi juhiseid.
- Seda toodet tohivad kasutada vaid PCR-meetodi ja süsteemi **cobas® 4800** kasutamise väljaõppe saanud töötajad.
- Selle tootega kasutamiseks on valideeritud ainult analüsaator **cobas z 480**. Muud reaajas optilise tuvastamisega termotsüklerit ei tohi selle tootega kasutada.
- Tehnoloogiate sisemiste erinevuste tõttu on soovitatav, et kasutaja teeks enne ühelt tehnoloogialt teisele lülitumist oma laboris tehnoloogiate erinevuste hindamiseks meetodi korrelatsiooniuringu.
- Faktori II ja V analüüsi **cobas® Factor II and Factor V Test** praimerite ja/või sondidega kaetud faktori II ja faktori V genoomse DNA piirkondades tekkinud mutatsioonid võivad tingida faktori II G20210A või faktori V G1691A mutatsiooni olemasolu tuvastamise ebaõnnestumise, kuigi seda esineb harva.
- PCR-i inhibiitorite esinemine võib põhjustada kehtetuid või ebakorrektsid tulemusi.
- Müügil olevad DNA eralduskomplektid sisaldavad lüüsireaktiivis sageli kaotroopilist soola (näiteks guanidiin-hüdrokloriidi) ja pesulahuses etanooli. Genoomse DNA proovidel leiduvad kaotroopilised soolad või etanool võivad põhjustada kehtetuid või ebakorrektsid tulemusi. DNA eraldamise käigus lüüsireaktiivide ja pesulahuste korrektseks eemaldamiseks, järgige DNA eraldusmeetodi tootja juhiseid.

Mittekliinilise toimivuse hindamine

Järgmised andmed on ette nähtud faktori II ja V analüüsi cobas® Factor II and Factor V Test analüütilise soorituse demonstreerimiseks.

Analüütiline tundlikkus

Faktori II ja faktori V õigeks genotüpiseerimiseks vajaliku genoomse DNA minimaalse koguse määramiseks eraldati DNA kolmest K₂EDTA täisvere proovist (faktori II suhtes heterosügootsest, faktori V suhtes heterosügootsest, faktori V suhtes homosügootsest mutandist) ja ühest rakuliinist (faktori II suhtes homosügootsest mutandist). Kasutati kolme erinevat müügil olevat täisverest DNA eraldamise meetodit ja ühte meetodit rakuliini jaoks. Igat genoomse DNA proovi analüüsiti faktori II ja V analüüsiga cobas® Factor II and Factor V Test kümnes 10 kontsentratsioonis: lahjendamata (kontsentratsioon varieerus vahemikus 6 kuni 38 ng/μl) ja üheksa seerialahjendusega vahemikus 1,0 kuni 0,0001 ng/μl. Igat lahjendust analüüsiti 24 korduses kahe komplekti partiiga kokku 48 korduses ühe kontsentratsiooni ja DNA proovi kohta. Lahjendamata genoomse DNA proove analüüsiti iga komplekti partii kohta kuues korduses kokku 12 korduses genoomse DNA proovi kohta.

Õige faktori II ja faktori V genotüüpide määramise sagedus nelja proovi, kõigi kolme DNA eraldusmeetodi ja mõlema komplektipartii kohta oli 98% kontsentratsioonil 0,01 ng/μl ja 100% kõikidel kõrgematel kontsentratsioonidel (Tab. 9). Kui DNA kogus on liiga väike, siis annab faktori II ja V analüüs cobas® Factor II and Factor V Test kehtetu tulemuse. Uuringu käigus määrati kõik genotüübid õigesti. Määramise piiriks on 0,01 ng/μl, mis on 10 korda väiksem kui vähim soovitatav DNA sisendkogus.

Tab. 9 Faktori II ja V analüüsi cobas® Factor II and Factor V Test analüütiline tundlikkus

Kontsentratsioon (ng/μl)	Arv	Faktori II ja V analüüsi cobas® Factor II and Factor V Test tulemused		
		Õigete arv (%)	Ebaõigete arv (%)	Kehtetute arv (%)
Lahjendamata*	120	120 (100%)	0 (0%)	0 (0%)
1	480	480 (100%)	0 (0%)	0 (0%)
0,3	480	480 (100%)	0 (0%)	0 (0%)
0,1	480	480 (100%)	0 (0%)	0 (0%)
0,03	480	480 (100%)	0 (0%)	0 (0%)
0,01	480	473 (98%)	0 (0%)	7 (2%)
0,003	480	86 (18%)	0 (0%)	394 (82%)
0,001	480	0 (0%)	0 (0%)	480 (100%)
0,0003	480	0 (0%)	0 (0%)	480 (100%)
0,0001	480	0 (0%)	0 (0%)	480 (100%)
0	480	0 (0%)	0 (0%)	480 (100%)

* 6 kuni 38 ng/μl

DNA sisendi ülemine piir

Kõrgemate DNA sisendkontsentratsioonide mõju hindamiseks faktori II ja V analüüsile **cobas®** Factor II and Factor V Test eraldati genoomne DNA neljast K₂EDTA täisvere proovist, kasutades kolme erinevat müügil olevat DNA eraldamise meetodit. Proovidele lisati kontsentreeritud rakuliinide DNA-d lõppkontsentratsioonideni 300 ng/µl, 150 ng/µl ja 75 ng/µl. Faktori II suhtes heterosügootsele, faktori V suhtes heterosügootsele ja faktori V suhtes homosügootsele mutantsele täisvere proovist eraldatud DNA-le lisati sarnaste genotüüpidega rakuliinide DNA-d. Faktori II suhtes mutatsiooniga homosügootset DNA-d lisati ilma leukotsüütideta täisvere (LDWB) proovist eraldatud DNA-le. Genoomse DNA lahjenduste kontsentratsioonid 300 ng/µl, 150 ng/µl ja 75 ng/µl analüüsiti 24 korduses kahe komplekti partiiga kokku 48 korduses ühe kontsentratsiooni ja DNA proovi kohta. Täisverest eraldatud genoomse DNA proove ilma lisatud rakuliini DNA-ta analüüsiti kuues korduses kahe komplekti partiiga kokku 12 korduses ühe kontsentratsiooni ja DNA proovi kohta. Kõik faktori II ja faktori V genotüüpiseerimise tulemused kontsentratsioonidel 300 ng/µl, 150 ng/µl ja 75 ng/µl olid õiged (Tab. 10). Ilma lisatud rakuliini DNA-ta LDWB proovid andsid, nagu eeldatud, kehtetud tulemused. Teised täisverest eraldatud genoomse DNA proovide faktori II ja faktori V analüüsides tulemused olid õiged. Suurim soovituslik DNA sisendkontsentratsioon on 150 ng/µl, pool testitud maksimaalsest sisendkontsentratsioonist.

Tab. 10 Faktori II ja V analüüsi cobas® Factor II and Factor V Test suuremate DNA sisendkontsentratsioonide testimine

Kontsentratsioon (ng/µl)	Arv	Faktori II ja V analüüsi cobas® Factor II and Factor V Test tulemused		
		Õigete arv (%)	Ebaõigete arv (%)	Kehtetute arv (%)
300	576	576 (100%)	0 (0%)	0 (0%)
150	576	576 (100%)	0 (0%)	0 (0%)
75	576	576 (100%)	0 (0%)	0 (0%)
Ilma lisatud rakuliini DNA-ta ^a	144	144 ^b (100%)	0 (0%)	0 (0%)

^a 6 kuni 38 ng/µl

^b Ilma leukotsüütideta täisvere proovidest eraldatud genoomne DNA andis eeldustele vastavalt kehtetud tulemused. Vastavad tulemused on tabelis märgitud kui korrektsed, mitte kehtetud.

DNA eraldamise reprodutseeritavus

Genoomne DNA eraldati viieteistkümnest täisvere proovist, kasutades kolme müügil olevat DNA eraldusmeetodit vastavalt tootja juhiste. DNA-d eraldasid kaks töötajat kolmel päeval kokku kuuel DNA eralduskorral iga proovi ja iga DNA eraldamise meetodi kohta. Igat genoomse DNA proovi analüüsiti kolmes korduses faktori II ja V analüüsiga **cobas®** Factor II and Factor V Test (Tab. 11). Sada protsenti faktori II ja V analüüsi **cobas®** Factor II and Factor V Test tulemustest oli kooskõlas faktori II ja faktori V kahesuunalise Sangeri DNA sekveneerimise meetodi tulemustega. Tulemusesse ei kaasatud ühte meetodiga A eraldatud DNA proovi. See oli roostevärvi ja andis kõigi kolme analüüsi korral kehtetud tulemused. Eraldatud DNA proovid peaksid olema selged ja värvitud. DNA proove, mis ei ole selged või värvitud, ei tohiks analüüsida, sest need võivad põhjustada kehtetuid või ebaõigeid tulemusi.

Tab. 11 DNA eraldamise reprodutseeritavus

DNA eraldamise meetod	Koguarv		Arv (%)						
	DNA eraldamised	Testi	Õiged tulemused			Ebaõiged tulemused		Kehtetud tulemused	
A	89 ^a	267 ^a	267 ^a	(100,0%)	[98,6–100] ^b	0	(0,0%)	0	(0,0%)
B	90	270	270	(100,0%)	[98,6–100]	0	(0,0%)	0	(0,0%)
C	90	270	270	(100,0%)	[98,6–100]	0	(0,0%)	0	(0,0%)
Kokku	269	807	807	(100,0%)	[99,5–100]	0	(0,0%)	0	(0,0%)

^a Üks meetodiga A eraldatud 90-st DNA proovist jäeti analüüsist välja, sest see oli roostevärvi. Analüüsida tuleks ainult selgeid ja värvituid DNA proove. DNA proove, mis ei ole selged või värvitud, ei tohiks analüüsida, sest need võivad põhjustada kehtetuid või ebaõigeid tulemusi.

^b 95% 2-poolne, alumine usalduspiir.

Analüütiline spetsiifilisus

Faktori V Leideni mutatsiooni (G1691A) ja faktori II (protrombiini) mutatsiooni (G20210A) läheduses asuvate teadaolevate ühenukleotiidsete polümorfismide (SNP-de) mõju analüüsimiseks analüüsiti faktori II ja V analüüsiga cobas® Factor II and Factor V Test kaheksat sondi seondumisalas oleva teadaoleva SNP-ga (A20207C, C20209T, A20218G, C20221T, G1689A, C1690T, A1692C ja A1696G) DNA plasmidi. Faktori II ja faktori V SNP-dega plasmidid olid vastavates positsioonides 20210 ja 1691 metsiktüüpi. Igat SNP plasmidi analüüsiti üksikuna ja kombinatsioonis koos metsiktüüpi faktori II plasmidi DNA-ga, metsiktüüpi faktori V plasmidi DNA-ga, koos metsiktüüpi faktori II ja metsiktüüpi faktori V DNA-dega ning täisverest eraldatud genoomse DNA-ga.

Ükski analüüsitud SNP plasmid ei põhjustanud faktori II (protrombiini) ega faktori V Leideni mutatsiooni analüüsil valepositiivseid tulemusi. Kõik neli faktori II SNP plasmidi ja kolm neljast faktori V SNP plasmidist määrati vastavalt faktori II ja faktori V metsiktüüpi DNA-ks. Faktori II ja V analüüsiga cobas® Factor II and Factor V Test ei tuvastatud ühte faktori V SNP plasmidi (G1689A). Kui vastav SNP paikneb mõlemas alleelis, siis on analüüsi tulemused kehtetud.

Segavat mõju avaldavad ained

Faktori II ja V analüüsile cobas® Factor II and Factor V Test ei avaldanud segavat mõju triglütseriidid (37 mM), bilirubiin (konjugeeritud ja konjugeerimata, 342 µM) ega kolesterool (13 mM), kui neid lisati täisverele vastavalt CLSI soovitatud kontsentratsioonidele.¹² Hemoglobiin ei avaldanud faktori II ja V analüüsile cobas® Factor II and Factor V Test segavat mõju, kui seda lisati täisverele kontsentratsioonis 20 g/l. Hüübimist takistav K₂EDTA ei avaldanud analüüsile segavat mõju, kui seda analüüsiti kontsentratsioonil 5,7 mg/ml, mis on umbes kolm korda suurem kui K₂EDTA kontsentratsioon täisveres, kui katsuti on kogutud täis. Hepariin, kumadiin (varfariin), rivaroksabaan (Xarelto) ja dabigatraan eteksilaat (Pradaxa) ei avaldanud segavat mõju faktori II ja V analüüsile cobas® Factor II and Factor V Test.

Müügil olev guanidiinhüdrokloriidi (tavaline koostisosa müügil olevates DNA eralduspuhvrites) sisaldav eralduspuhver avaldas segavat mõju faktori II ja V analüüsile cobas® Factor II and Factor V Test, kui selle kontsentratsioon DNA proovides oli 2,5% (v/v). Etanool (tavaline koostisosa müügil olevates DNA eraldusmeetodite pesulahustes) avaldas segavat mõju faktori II ja V analüüsile cobas® Factor II and Factor V Test, kui selle kontsentratsioon DNA proovides oli 5% (v/v). Mõlema aine puhul põhjustas segav mõju kehtetuid tulemusi.

Eri partiide vaheline korratavus

Faktori II ja V analüüsi cobas® Factor II and Factor V Test eri partiide vahelist varieeruvust hinnati analüüsides seitsmest K₂EDTA-ga täisvere proovist eraldatud genoomse DNA proovi kolme faktori II ja V analüüsi cobas® Factor II and Factor V Test partiiga. Analüüsid teostasid kaks töötajat viiel üksteisele mittejärgneval päeval kahe analüsaatoriga cobas z 480, ühe tööseeria ühe päeva ja ühe komplekti kohta ning kahes korduses tööseeria kohta, kokku 60 korduses iga proovi kohta (Tab. 12). Faktori II ja V analüüsi cobas® Factor II and Factor V Test tulemusi võrreldi faktori II ja faktori V kahesuunalise Sangeri DNA sekveneerimise meetodi tulemustega. Üldine kokkulangevus faktori II ja V analüüsi cobas® Factor II and Factor V Test tulemuste ja nukleiinhappe sekveneerimise vahel oli kõikide proovide ja reaktiivpartiide vahel 100% (ühepoolne, madalam 95% usalduspiir 99,3%).

Tab. 12 Eri partiide vaheline korratavus

Proovi ID	Faktori II genotüüp	Faktori V genotüüp	Testide arv partii kohta	Õigete genotüüpide arv (%)			
				1. partii	2. partii	3. partii	Kõik partiid
S1	Metsiktüüpi	Metsiktüüpi	20	20 (100%)	20 (100%)	20 (100%)	60 (100%)
S2	Metsiktüüpi	Metsiktüüpi	20	20 (100%)	20 (100%)	20 (100%)	60 (100%)
S3	Metsiktüüpi	Heterosügootne	20	20 (100%)	20 (100%)	20 (100%)	60 (100%)
S4	Heterosügootne	Metsiktüüpi	20	20 (100%)	20 (100%)	20 (100%)	60 (100%)
S5	Metsiktüüpi	Homosügootne mutantne	20	20 (100%)	20 (100%)	20 (100%)	60 (100%)
S6	Homosügootne mutantne	Metsiktüüpi	20	20 (100%)	20 (100%)	20 (100%)	60 (100%)
S7	Heterosügootne	Heterosügootne	20	20 (100%)	20 (100%)	20 (100%)	60 (100%)
Kokku			140	140 (100%)	140 (100%)	140 (100%)	420 (100%)

Kliinilise toimivuse hindamine

Meetodite vaheline korrelatsioon: võrdlus Sangeri sekveneerimisega

Täisvere ja DNA proovid (kokku N = 300) esindavad planeeritavat näidispopulatsiooni ja neid analüüsiti ühes asukohas faktori II ja V analüüsiga cobas® Factor II and Factor V Test. Kahesuunaline Sangeri sekveneerimine viidi läbi teises asukohas. Osadest K₂EDTA-ga täisvere proovidest kasutati DNA eraldamiseks müügil olevat käsitsi eraldamise meetodit. Kokku analüüsiti 284 täisvere proovi ja need proovid esindasid levinumaid faktori II ja faktori V genotüüpe. Enamik haruldase faktori II homosügootseid mutatsiooniga/faktori V metsiktüüpi genotüüpe saadi genoomse DNA (gDNA) proovidenäidena ilma täpsustatud eraldamise metoodikata. Genotüüpe ja proovitüüpe kirjeldab Tab. 13.

Tab. 13 Uuringusse kaasatud faktori II ja faktori V genotüübid ja proovide tüübid

Faktor II (F2)	Faktor V (F5)	Proovitüüp
Metsiktüüpi (WT F2)	Metsiktüüpi (WT F5)	Täisveri
Metsiktüüpi (WT F2)	Heterosügootne (HET F5)	Täisveri
Heterosügootne (HET F2)	Metsiktüüpi (WT F5)	Täisveri
Heterosügootne (HET F2)	Heterosügootne (HET F5)	Täisveri
Metsiktüüpi (WT F2)	Mutatsiooniga homosügootne (MUT F5)	Täisveri
Mutatsiooniga homosügootne (MUT F2)	Metsiktüüpi (WT F5)	Täisveri ja gDNA

Kõik 300 proovi andsid kahesuunalisel Sangeri sekveneerimisel ja faktori II ja V analüüsil cobas® Factor II and Factor V Test kehtivad tulemused. Faktori II ja faktori V analüüside tulemused klassifitseeriti õigeteks juhul, kui nii faktori II ja V analüüs cobas® Factor II and Factor V Test ja Sangeri sekveneerimine tuvastasid sama genotüübi. Faktori II ja faktori V analüüside tulemused klassifitseeriti ebaõigeks juhul, kui faktori II ja V analüüs cobas® Factor II and Factor V Test ja Sangeri sekveneerimine tuvastasid faktori II või faktori V puhul erineva genotüübi.

Kahe analüüsi vaheline faktori II üldine protsentuaalne kokkulangevus (OPA) oli 100%, 95% alumise usalduspiiriga 99,11%. Nii positiivne protsentuaalne kokkulangevus (PPA) kui ka negatiivne protsentuaalne kokkulangevus (NPA) olid 100%, alumiste usalduspiiridega vastavalt 98,24% ja 98,22%. Heterosügootsete ja homosügootsete mutatsiooniga genotüüpide protsentuaalne kokkulangevus oli 100%.

Kahe analüüsi vaheline faktori V OPA oli 100%, 95% alumise usalduspiiriga 99,11%. Nii PPA kui ka NPA olid 100%, alumiste usalduspiiridega vastavalt 98,26% ja 98,19%. Heterosügootsete ja homosügootsete mutatsiooniga genotüüpide protsentuaalne kokkulangevus oli 100%.

Tab. 14 koondab kombineeritud tulemusi.

Tab. 14 Faktori II ja V analüüsi cobas® Factor II and Factor V Test toimivus, kasutades kombineeritud faktori II ja faktori V tulemuste tuvastamiseks võrdlusena kahe-suunalist Sangeri sekveneerimist

Kahe-suunalise Sangeri sekveneerimise tulemus	Faktori II ja V analüüsi cobas® Factor II and Factor V Test tulemus						Kokku
	HET F2 / HET F5	HET F2 / WT F5	MUT F2 / WT F5	WT F2 / HET F5	WT F2 / MUT F5	WT F2 / WT F5	
HET F2 / HET F5	25	0	0	0	0	0	25
HET F2 / WT F5	0	105	0	0	0	0	105
MUT F2 / WT F5	0	0	21	0	0	0	21
WT F2 / HET F5	0	0	0	105	0	0	105
WT F2 / MUT F5	0	0	0	0	23	0	23
WT F2 / WT F5	0	0	0	0	0	21	21
Kokku	25	105	21	105	23	21	300

Reprodutseeritavus

Faktori II ja V analüüsi cobas® Factor II and Factor V Test faktori II G20210A ja faktori V Leideni mutatsiooni (G1691A) määramise reprodutseeritavust hinnati kolmes uuringukohas kasutades üheksaliikmelist paneeli: nelja unikaalset K₂EDTA vereproovi, kolme kunstlikku vereproovi ja kahte eraldatud genoomse DNA (gDNA) proovi, mis olid lahendatud kontsentratsioonini 0,2 ng/µl. Igas uuringukohas eraldati DNA vereproovidest kasutades ühte kolmest müügil olevatest proovide käsitsi valmistamise meetodist. Iga uuringukoht kasutas ühte kolmest faktori II ja V analüüsi cobas® Factor II and Factor V Test partiist ja ühte seadet. Analüüsi teostasid ühes uuringukohas kaks töötajat ühe tööseeria jooksul päevas ühe töötaja kohta 5 mittejärjestikusel päeval.

Õige tulemus defineeriti kui kokkulangevus faktori II ja V analüüsi cobas® Factor II and Factor V Test ja Sangeri sekveneerimisega tuvastatud paneeliliikme vahel. Ebaõige tulemus defineeriti kui erinevus cobase analüüsi tulemuse ja Sangeri sekveneerimisega tuvastatud paneeliliikme vahel. Faktori II ja V analüüsi cobas® Factor II and Factor V Test tulemused esitati iga proovi kohta nii faktori II kui ka faktori V jaoks. Mõlema mutatsiooni kohta esitati kas kehtiv või kehtetu tulemus.

30 kehtiva seeria jooksul teostati 540 analüüsi: 240 K₂EDTA vereproovi, 180 kunstlikku vereproovi ja 120 gDNA-d. Nendest 540-st proovist andis ainult üks kunstlik vereproov kehtetu tulemuse. Kõik kehtivad faktori II ja faktori V analüüsi tulemused olid õiged ja seega oli kokkulangevus kõikidel tasemetel (genotüübi, uuringukoha/DNA eraldamise meetodi/reaktiivipartii, proovi tüübi, töötajate ja päeva) 100%. Üldine kehtetute proovide sagedus oli 0,19% (1/540). Tab. 15 ja Tab. 16 kirjeldavad kokkuvõtlikult uuringu tulemusi.

Tab. 15 Reprodutseeritavuse uuringu kokkuvõte – faktor II

Genotüüp vastavalt sekveneerimisele ^a	Õigete tulemuste arv/ testitud proovide arv			Ebaõiged tulemused	Kehtetud tulemused ^c	Õigete tulemuste arv/ kehtivate tulemuste arv (%)	95% LCB ^d
	Faktor II	Asutus 1 ^b / partii 1 Meetod A	Asutus 2 ^b / partii 2 Meetod B				
WT^e	100/100	100/100	100/100	0	0	300/300 (100%)	99,01
HET^e	60/60	59/60	60/60	0	1	179/179 (100%)	98,34
MUT^f	20/20	20/20	20/20	0	0	60/60 (100%)	95,13

^a WT: metsiktüüpi; HET: heterosügootne; MUT: homosügootne mutantne

^b Igas asukohas kasutati erinevat DNA eraldamise meetodit (A, B, C) ja erinevat faktori II ja V analüüsi **cobas**® Factor II and Factor V Test partiid.

^c Kehtetu tulemus, mida uuesti ei analüüsitud.

^d Ühepoolne 95% usaldusvahemiku alumise piiri väärtus (LCB).

^e Igas asukohas saadi 20 tulemust gDNA proovidest ja 20 kunstlikest vereproovidest.

^f Ainult kunstlikest vereproovidest.

Tab. 16 Reprodutseeritavuse uuringu kokkuvõte – faktor V

Genotüüp vastavalt sekveneerimisele ^a	Õigete tulemuste arv/ testitud proovide arv			Ebaõiged tulemused	Kehtetud tulemused ^c	Õigete tulemuste arv/ kehtivate tulemuste arv (%)	95% LCB ^d
	Faktor V	Asutus 1 ^b / partii 1 Meetod A	Asutus 2 ^b / partii 2 Meetod B				
WT^e	100/100	100/100	100/100	0	0	300/300 (100%)	99,01
HET^e	60/60	59/60	60/60	0	1	179/179 (100%)	98,34
MUT^f	20/20	20/20	20/20	0	0	60/60 (100%)	95,13

^a WT: metsiktüüpi; HET: heterosügootne; MUT: homosügootne mutantne

^b Igas asukohas kasutati erinevat DNA eraldamise meetodit (A, B, C) ja erinevat faktori II ja V analüüsi **cobas**® Factor II and Factor V Test partiid.

^c Kehtetu tulemus, mida uuesti ei analüüsitud.

^d Ühepoolne 95% usaldusvahemiku alumise piiri väärtus (LCB).

^e Igas asukohas saadi 20 tulemust gDNA proovidest ja 20 kunstlikest vereproovidest.





















































^f Ainult kunstlikest vereproovidest.

Lisateave

Sümbolid

Roche'i PCR diagnostikatoodete märgistamisel kasutatakse järgmisi sümboleid.

Tab. 17 Roche'i PCR diagnostikatoodete märgistamisel kasutatavad sümbolid

 Vanus või sünniaeg	 Seade, mis ei ole ettenähtud patsiendi lähedal testimiseks	 QS IU PCR-reaktsiooni kohta, kasutage tulemuste arvutamisel QS rahvusvahelisi ühikuid (IU) PCR-reaktsiooni kohta.
 Lisatarkvara	 Seade, mis ei ole ettenähtud enesetestimiseks	 Seerianumber
 Etteantud vahemik (koopiat/ml)	 Edasimüüja (Märkus. Sümboli all võib olla määratletud vastav riik/piirkond.)	 Uuringukoht
 Etteantud vahemik (IU/ml)	 Mitte korduskasutada	 Standardne protseduur
 Volitatud esindaja Euroopa Ühenduses	 Naine	 Steriliseeritud etüleenoksiidi kasutades
 Võõtkoodi andmeleht	 Ainult IVD toimivuse hindamiseks	 Hoida pimedas
 Partii number	 Globaalne kaubaartikli kood	 Temperatuuripiir
 Bioloogilised riskid	 Maaletooja	 Katsekirjeldusfail
 Tootekood	 Meditsiiniline <i>in vitro</i> diagnostikavahend	 Siit üles
 CE-vastavusmärgis; see seade vastab meditsiinilisele <i>in vitro</i> diagnostikavahendile kohaldatavatele CE-märgise nõuetele.	 Määratud vahemiku alampiir	 Ülitundlik meetod
 Kogumise kuupäev	 Mees	 Seadme unikaalne identifikaator
 Enne kasutamist lugege juhendit	 Tootja	 Määratud vahemiku ülempiir
 Piisab <n> testiks	 Negatiivne kontroll	 Uriini täitejoon
 Komplekti sisu	 Mittesteriilne	 Ainult USA-s: seadet on föderaalseaduste alusel lubatud müüa ainult arstile või arsti tellimusel.
 Kontroll	 Patsiendi nimi	 Kasutustähtaeg
 Tootmiskuupäev	 Patsiendi number	
 Seade, mis on ettenähtud patsiendi lähedal testimiseks	 Rebige siit	
 Seade enesetestimiseks	 Positiivne kontroll	
	 QS koopiat PCR-reaktsiooni kohta, kasutage tulemuste arvutamisel QS koopiaid PCR-reaktsiooni kohta.	

Tehniline tugi

Tehnilise toe (abi) saamiseks pöörduge palun oma kohaliku sidusettevõtte poole:

https://www.roche.com/about/business/roche_worldwide.htm

Tootja, maaletooja ja turustaja

Tabel 18 Tootja, maaletooja ja turustaja



Roche Molecular Systems
1080 US Highway 202 South
Branchburg, NJ 08876 USA
www.roche.com



Roche Diagnostics GmbH
Sandhofer Strasse 116
68305 Mannheim, Germany

EC Importer¹

Distributed by
Roche Diagnostics
9115 Hague Road
Indianapolis, IN 46250-0457 USA
(For Technical Assistance call the
Roche Response Center
toll-free: 1-800-526-1247)²

¹ Sümboli tekst on vajalik ainult USA-s.

² Ainult USA jaoks.

Kaubamärgid ja patendid

Vt <https://diagnostics.roche.com/us/en/about-us/patents>

Autoriõigus

©2022 Roche Molecular Systems, Inc.



Roche Diagnostics GmbH
Sandhofer Str. 116
68305 Mannheim
Germany



Viited

1. Silverstein MD, Heit JA, Mohr DN, Petterson TM, O'Fallon WM, Melton LJ 3rd. Trends in the incidence of deep vein thrombosis and pulmonary embolism: a 25-year population-based study. *Arch Intern Med.* 1998;158:585-593.
2. Goldhaber SZ, Bounameaux H. Pulmonary embolism and deep vein thrombosis. *Lancet.* 2012; 379:1835-1846.
3. Grody WW, Taylor AK, Korf BR, Heit JA. American College of Medical Genetics, A consensus statement on Factor V Leiden mutation testing. *Genet Med.* 2001; 2001;3:139-148.
4. Rosendaal FR, Koster T, Vandenbroucke JP et al. High Risk of Thrombosis in Patients Homozygous for Factor V Leiden (Activated Protein C Resistance). *Blood.* 1995; 85:1504-1508.
5. Spector EB, Grody WW, Matteson CJ, et al. Technical standards and guidelines: Venous thromboembolism (Factor V Leiden and prothrombin 20210G>A testing): A disease-specific supplement to the standards and guidelines for clinical genetics laboratories. *Genet Med.* 2005;7:444-453.
6. Grody WW, Griffin JH, Taylor AK, Korf BR, Heit JA, ACMG Factor V Leiden Working Group. American College of Medical Genetics consensus statement on factor V Leiden mutation testing. . *Genet Med.* 2001;3:139-148.
7. Poort SR, Rosendaal FR, Reitsma PH, Bertina RM. A common genetic variation in the 3'-untranslated region of the prothrombin gene is associated with elevated plasma prothrombin levels and an increase in venous thrombosis. *Blood.* 1996;88:3698-3703.
8. Longo MC, Berninger MS, Hartley JL. Use of uracil DNA glycosylase to control carry-over contamination in polymerase chain reactions. *Gene.* 1990;93:125-128.
9. Center for Disease Control and Prevention. Biosafety in microbiological and biomedical laboratories, 5th ed. U.S. Department of Health and Human Services, Public Health Service, Centers for Disease Control and Prevention, National Institutes of Health HHS Publication No. (CDC) 21-1112, revised December 2009.
10. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Protection of laboratory workers from occupationally acquired infections. Approved Guideline-Fourth Edition. CLSI Document M29-A4: Wayne, PA; CLSI, 2014.
11. International Air Transport Association. Dangerous Goods Regulations, 52nd Edition. 2011.
12. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Interference testing in clinical chemistry; Approved Guideline-Second Edition. CLSI Document EP07-A2 Appendix D: Wayne, PA; CLSI, 2005.

Dokumendi redaktsioon

Dokumendi redaktsiooniteave	
Doc Rev. 2.0 12/2022	<p>Uuendati IVDR-i nõuetega vastavusse viimiseks.</p> <p>Uuendati jaotist Ettevaatusabinõud ja käitlemise nõuded, et soovitada kasutajal võtta ühendust kohaliku pädeva asutusega.</p> <p>Uuendati jaotist Terviklikkus, et soovitada kasutajal mitte kasutada reaktiive või mahuteid, mis on nähtavalt kahjustatud või millel on lekkemärgid.</p> <p>Lisati link ohutuse ja toimivuse kokkuvõtte veebilehele.</p> <p>Lisati jaotis Tehniline tugi ja maaletooja aadress.</p> <p>Uuendati ühtlustatud sümbolite lehte.</p> <p>Eemaldatud edasimüüjate aadressid.</p> <p>Küsimuste tekkimise korral võtke ühendust Roche'i kohaliku esindajaga.</p>

Ohutuse ja toimivuse kokkuvõtte leiab järgmiselt lingilt: <https://ec.europa.eu/tools/eudamed>