

# **cobas<sup>®</sup> Factor II and Factor V Test**

Voor gebruik bij *in-vitro* diagnostiek



**cobas<sup>®</sup> Factor II and Factor V Test**

96 Tests

P/N: 07948352190

## INHOUDSOPGAVE

<b>Beoogd gebruik .....</b>	<b>4</b>
<b>Samenvatting en verklaring van de test.....</b>	<b>4</b>
Achtergrond.....	4
Principes van de procedure.....	4
Monstervoorbereiding.....	4
PCR-amplificatie .....	5
<b>Materialen en reagentia .....</b>	<b>7</b>
Meegeleverde materialen en reagentia .....	7
Opslag en verwerking van reagentia.....	7
Aanvullende vereiste materialen .....	8
Vereiste maar niet meegeleverde instrumenten en software .....	8
<b>Voorzorgsmaatregelen en vereisten voor verwerking .....</b>	<b>9</b>
Waarschuwingen en voorzorgsmaatregelen.....	9
Goede laboratoriumpraktijken.....	9
Besmetting .....	9
Integriteit .....	10
Afvoeren .....	10
Morsen en reinigen .....	10
<b>Afname, vervoer en opslag van monsters .....</b>	<b>11</b>
Verzameling en hantering van monsters .....	11
Vervoer, opslag en stabiliteit van monsters.....	11
Opslag en stabiliteit van verwerkte monsters.....	11
<b>Testprocedure.....</b>	<b>12</b>
De test uitvoeren.....	12
<b>Gebruiksaanwijzing .....</b>	<b>12</b>
Run-omvang .....	12
DNA-isolatie .....	13
Amplificatie en detectie .....	13
Instrumenten instellen.....	14
Reactie voorbereiden .....	15
Vorbereiding van de plaat.....	16
PCR starten .....	16

<b>Resultaten.....</b>	<b>17</b>
Interpretatie van resultaten.....	17
Monsters met ongeldige resultaten opnieuw testen .....	17
Kwaliteitscontrole en geldigheid van resultaten .....	17
Lijst met resultaatvlaggen.....	18
Procedurele beperkingen.....	19
<b>Niet-klinische evaluatie.....</b>	<b>20</b>
Analytische gevoeligheid.....	20
Bovenste limiet van DNA-invoer.....	21
Reproduceerbaarheid van de DNA-isolatie.....	22
Analytische specificiteit.....	22
Interfererende stoffen .....	23
Herhaalbaarheid van partij tot partij.....	23
<b>Klinische evaluatie.....</b>	<b>24</b>
Methodecorrelatie: vergelijking met Sanger-sequencing .....	24
Reproduceerbaarheid.....	25
<b>Aanvullende informatie.....</b>	<b>27</b>
Symbolen .....	27
Technische ondersteuning.....	28
Fabrikant, importeur en distributeur .....	28
Handelsmerken en patenten.....	28
Copyright.....	28
Referenties .....	29
Documentrevisie .....	30

## Beoogd gebruik

De cobas® Factor II- en Factor V-test is een set voor *in-vitro* diagnostiek, die gebruik maakt van de real-time polymerase-kettingreactie (*Polymerase Chain Reaction* — PCR) voor de detectie en genotypering van de humane Factor II (protrombine) G20210A-mutatie en de humane Factor V (Leiden)-mutatie, van genoom-DNA verkregen uit K<sub>2</sub>EDTA-volbloedmonsters, als hulpmiddel bij de diagnose van patiënten met vermoede trombofilie. De cobas® Factor II- en Factor V-test en de cobas z 480 analyzer worden samen gebruikt voor geautomatiseerde amplificatie en detectie.

## Samenvatting en verklaring van de test

### Achtergrond

Trombofilie is een aandoening waarbij de patiënt vatbaar is voor ontwikkeling van trombose (bijvoorbeeld bloedstolsels) als gevolg van een erfelijke of verworven afwijking in het stollingssysteem. Bloedstolsels kunnen zich in het veneuze of arteriële vasculaire systeem vormen en kunnen tot diep-veneuze trombose (*Deep Vein Thrombosis* — DVT) en long-embolie (*Pulmonary Embolism* — PE) leiden. Samen worden DVT en PE als veneuze trombo-embolie (VTE) aangeduid.<sup>1</sup> VTE is de derde oorzaak van cardiovasculair overlijden na acuut coronair syndroom en beroerte.<sup>2</sup>

Erfelijke trombofilie wordt het vaakst veroorzaakt door een Factor V of Factor II (protrombine) genmutatie. De Factor V (Leiden)-mutatie is een éénpuntsmutatie (van G naar A op positie 1691, oftewel G1691A) van het humane Factor V-gen, dat resulteert in vervanging van arginine door glutamine op positie 506 (R506Q) in de Factor V-proteïne. De Factor V (Leiden)-mutatie maakt de proteïne gedeeltelijk resistent tegen deactivering door geactiveerd C-proteïne (*Activated Protein C* — APC). APC-resistentie wordt beschouwd als de meest voorkomende stollingsafwijking die met VTE wordt geassocieerd.<sup>3,4</sup> Genetische analyse heeft aangetoond dat de Factor V (Leiden)-mutatie, die een relatief hoge prevalentie binnen de algemene populatie heeft (bijv. ongeveer 5% bij de blanke populatie), mogelijk 85% tot 95% van de gevallen van APC-resistentie uitmaakt.<sup>4</sup> Naast de Factor V G1691A-mutatie worden moleculair-genetische tests voor Factor II G20210A (van G naar A op positie 20210) aanbevolen, aangezien deze mutatie aanwezig is in 1–3% van de algemene populatie en haar betrokkenheid bij VTE duidelijk vaststaat.<sup>5–7</sup> Een evaluatie van het risico van een patiënt op erfelijke trombofilie door middel van een Factor II- en Factor V-genotyperingstest is cruciaal voor de diagnose en klinische behandeling van patiënten met trombofilie.

### Principes van de procedure

De cobas® Factor II- en Factor V-test gebruikt een real-time PCR-analyse van genoom DNA-monsters die uit K<sub>2</sub>EDTA volbloed zijn geïsoleerd, voor het vaststellen van het genotype van het Factor II-gen op positie 20210 en/of het genotype van het Factor V-gen op positie 1691. De test wordt uitgevoerd op de cobas z 480 analyzer. Elke run omvat een positieve controle (F2F5 PC) en een negatieve controle (F2F5 NC) teneinde de geldigheid van de run te bevestigen.

### Monstervoorbereiding

Isolatie van genoom-DNA uit K<sub>2</sub>EDTA volbloedmonsters kan worden bewerkstelligd met behulp van DNA-isolatiemethoden die DNA met een toereikende concentratie (≥ 0,1 ng/μl) opleveren.

## PCR-amplificatie

### Doelselectie

De cobas® Factor II- en Factor V-test bevat twee PCR-primerparen die een gebied van 173 basisparen van het Factor II-gen en een gebied van 233 basisparen van het Factor V-gen met de locaties van respectievelijk de Factor II- (protrombine) en Factor V (Leiden)-mutaties amplificeren. Voor elk gen worden zowel allelen van het wilde type als mutante allelen geamplificeerd.

### Doelamplificatie

Voor de amplificatie van de doelgebieden van Factor II en Factor V worden DNA-polymerase en PCR-primers van *Thermus*-soort Z05 gebruikt. Eerst wordt het PCR-mengsel verhit om het genoom-DNA te denatureren en de doel-sequenties van de primer bloot te leggen. Naarmate het mengsel afkoelt, gloeien de upstream- en downstream-primers aan de doel-DNA-sequenties in de Factor II- en Factor V-genen, en breidt de Z05 DNA-polymerase, in de aanwezigheid van bivalente metalen kationen en overvloedige dinucleotidetrifosfaten (dNTP's), elke gegloeide primer uit met behulp van het doel-DNA als sjabloon. Dit voltooit de eerste cyclus van PCR, die dubbelstrengs DNA-kopieën (amplicons) van de doelregio van Factor II en de doelregio van Factor V oplevert. Dit proces wordt gedurende een aantal cycli herhaald, waarbij elke cyclus de hoeveelheid Factor II- en Factor V-DNA effectief voor de doelregio's verdubbelt.

### Geautomatiseerde real-time genotypering

De cobas® Factor II- en Factor V-test gebruikt een real-time PCR-analyse voor het vaststellen van het genotype van het Factor II-gen op positie 20210 en het genotype van het Factor V-gen op positie 1691. De reactie bevat vier oligonucleotide-probes, twee voor Factor II (sequenties van de G20210A-mutatie en van het wilde type) en twee voor Factor V (sequenties van de G1691A-mutatie en van het wilde type). Elke oligonucleotideprobe wordt gelabeld met een fluorescerende kleurstof die als rapportagemiddel fungeert, en met een blusmolecule die de fluorescerende emissies van de rapportagekleurstof binnen een intacte probe absorbeert (blust). Tijdens elke amplificatiecyclus worden de probes aan de complementaire gebieden van het amplicon-DNA gebonden, en door de 5' tot 3' nuclease activiteit van het Z05 DNA-polymerase gesplitst. De probes van het wilde type en de mutante probes worden alleen gesplitst als deze aan respectievelijk de overeenkomstige sequenties van de mutatie en van het wilde type van Factor II en Factor V zijn gebonden.

Door de splitsing van de probemoleculen kan de rapportagekleurstof van het blusmiddel worden gescheiden, zodat de fluorescentie van de rapportagekleurstof kan worden gemeten wanneer de reactie met licht van de juiste golflengte wordt bestraald. De probes van het wilde type en de mutante probes van Factor II en Factor V worden met verschillende rapportagekleurstoffen gelabeld. Detectie van een verhoogde fluorescentie voor een van de rapportagekleurstoffen tijdens de real-time PCR geeft aan dat het Factor II- of Factor V-allel dat met de desbetreffende kleurstof overeenkomt, in de reactie aanwezig is. De Factor II- en Factor V-genotypen worden bepaald op basis van de allelen die voor elk gen worden gedetecteerd. Als voor een gen zowel mutante allelen als allelen van het wilde type worden gedetecteerd, is het genotype heterozygoot. Als alleen allelen van het wilde type of mutante allelen worden gedetecteerd, is het genotype respectievelijk van het wilde type of homozygoot mutant. Als er noch allelen van het wilde type noch mutante allelen voor Factor II of Factor V worden gedetecteerd, is het resultaat voor beide genen ongeldig.

### Selectieve amplificatie

Selectieve amplificatie van doelnucleïnezuur van het monster wordt binnen de cobas® Factor II- en Factor V-test bereikt door middel van AmpErase-enzym (uracil-N-glycosylase) en deoxyuridinetrifosfaat (dUTP).<sup>8</sup> Het AmpErase-enzym herkent en katalyseert de deconstructie van DNA-strengen die deoxyuridine bevatten, maar niet van DNA dat thymidine bevat. Deoxyuridine is niet aanwezig in natuurlijk voorkomend DNA maar is altijd aanwezig in amplicon-DNA als gevolg van het gebruik van dUTP in plaats van deoxythymidinetrifosfaat als een van de dinucleotidetrifosfaten in het Master Mix reagens; daarom bevat alleen amplicon-DNA deoxyuridine. Deoxyuridine maakt verontreinigend amplicon gevoelig voor vernietiging door het AmpErase-enzym voorafgaand aan amplificatie van het target-DNA. Het AmpErase-enzym, dat is inbegrepen in de Master Mix-reagentia, katalyseert de splitsing van deoxyuridine-bevattend DNA bij de deoxyuridineresten door de desoxyriboseketen te openen bij de C1-positie. Wanneer dit DNA in de eerste stap van de temperatuurcyclus bij een alkalische pH wordt verwarmd, breekt de DNA-keten van het amplicon op de plaats van het deoxyuridine, waardoor het DNA niet-amplificeerbaar wordt. Het AmpErase-enzym is inactief bij temperaturen boven 55 °C, bijvoorbeeld in de stappen voor temperatuurcyclus, en vernietigt daardoor niet het targetamplicon.

## Materialen en reagentia

### Meegeleverde materialen en reagentia

Set	Reagentia en Ingrediënten	Hoeveelheid per test	Veiligheidssymbool en waarschuwing <sup>a</sup>
cobas® Factor II and Factor V Test 96 tests (P/N: 07948352190)	<b>F2F5 MMX (dop met gouden knop)</b> (Factor II en Factor V Master Mix) Thermostabiele DNA-polymerase, AmpErase (uracil-N-glycosylase), oligonucleotide-PCR-primers, fluorescerende gelabelde oligonucleotideprobes, deoxynucleotide-trifosfaten, glycerol, dimethylsulfoxide, niet-ionogene detergentia en 0,09% natriumazide	4 × 0,6 ml	N.v.t.
	<b>F2F5 COFACTOR (dop met groenblauwe knop)</b> (Factor II en Factor V cofactor) Mangaanacetaat, magnesiumacetaat, runder serumalbumine en 0,09% natriumazide	4 × 0,15 ml	N.v.t. — geen gevaarlijke stof of gevaarlijk mengsel. EUH210 Veiligheidsinformatieblad op verzoek verkrijgbaar.
	<b>F2F5 PC (dop met rode knop)</b> (Factor II en Factor V positieve controle) Niet-infectieuze nucleïnezuren in een gebufferde oplossing met 0,05% natriumazide	4 × 0,05 ml	N.v.t.
	<b>F2F5 NC (dop met blauwe knop)</b> (Factor II en Factor V negatieve controle) Gebufferde oplossing met 0,05% natriumazide	4 × 0,4 ml	N.v.t.

<sup>a</sup> Productveiligheidslabels volgen hoofdzakelijk EU GHS-richtlijnen.

### Opslag en verwerking van reagentia

Set	Opslagtemperatuur	Opslagtermijn
cobas® Factor II and Factor V Test	2 °C tot 8 °C	Nadat een reagens uit de set is geopend, blijft dit stabiel voor maximaal twee toepassingen gedurende 90 dagen, of tot de uiterste gebruiksdatum, afhankelijk van wat eerder optreedt.

**Opmerking: Vries reagentia niet in.**

## Aanvullende vereiste materialen

Materialen	P/N
Bleekmiddel	Elke leverancier
70% ethanol	Elke leverancier
<b>cobas</b> ® 4800-systeem microwellplaat (AD-plaat) en afdichtfilm	Roche 05232724001
<b>cobas</b> ® 4800-systeem afdichtfilmapplicator (meegeleverd met de installatie van het <b>cobas</b> ® 4800-systeem)	Roche 04900383001
Verstelbare pipetten* (geschikt voor het pipetteren van 5–1000 µl)	Elke leverancier
DNase-vrije pipetuiteinden met aerosolbarrière of positieve verplaatsing	Elke leverancier
Tafelmodel microcentrifuge* (geschikt voor 20.000 × g)	Eppendorf 5430, Eppendorf 5430R of equivalent
Microcentrifugebuizen (1,5 ml, RNase/DNase-vrij en van PCR-kwaliteit)	Life Technologies AM12400, Eppendorf 022364120 of equivalent
Rekken voor conische buizen en microcentrifugebuizen	Elke leverancier
Vortexmixer*	Elke leverancier
Poedervrije wegwerphandschoenen	Elke leverancier

\* Alle apparatuur moet correct en volgens de instructies van de fabrikant worden onderhouden.

Neem contact op met uw lokale vertegenwoordiger van Roche voor meer informatie over de afzonderlijk verkochte materialen.

## Vereiste maar niet meegeleverde instrumenten en software

Vereiste instrumenten en software, niet meegeleverd
<b>cobas z</b> 480 analyzer
<b>cobas</b> ® 4800 System Control Unit met systeemsoftware versie 2.2 of hoger
Factor II and Factor V Analysis Package met softwareversie 1.0 of hoger
Externe USB-streepjescodelezer
Printer (bijv. HP P2055d)

Neem contact op met uw lokale vertegenwoordiger van Roche voor meer informatie over de afzonderlijk verkochte materialen.

# Voorzorgsmaatregelen en vereisten voor verwerking

## Waarschuwingen en voorzorgsmaatregelen

Zoals voor elke testprocedure geldt zijn goede laboratoriumpraktijken essentieel voor goede prestaties van deze test.

- Uitsluitend voor gebruik bij *in-vitro*-diagnostiek.
- Veiligheidsinformatiebladen (*Safety Data Sheets* — SDS) zijn op verzoek verkrijgbaar bij het dichtstbijzijnde kantoor van Roche.
- Alle monsters moeten volgens goede laboratoriumprocedures, zoals de procedures beschreven in Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories<sup>9</sup> en in het CLSI-document M29-A4<sup>10</sup> als infectueus worden behandeld.
- Het gebruik van steriele wegwerppipetten en DNase-vrije pipetuiteinden wordt aanbevolen.
- Informeer uw plaatselijke bevoegde instantie over ernstige incidenten die zich kunnen voordoen bij gebruik van deze test.

## Goede laboratoriumpraktijken

- Pipetteer niet met de mond.
- Eet, drink en rook niet binnen de werkomgevingen van laboratoria.
- Was de handen grondig na het hanteren van monsters en reagentia uit de set.
- Draag oogbescherming, laboratoriumjassen en wegwerphandschoenen wanneer u reagentia hanteert. Voorkom dat deze materialen in contact komen met de huid, ogen of slijmvliezen. Als een dergelijk contact toch optreedt, dient onmiddellijk te worden gewassen met grote hoeveelheden water. Indien onbehandeld, kunnen brandwonden optreden. Indien wordt gemorst, dient de vloeistof eerst te worden verdund met water voordat het oppervlak wordt drooggeveegd.
- Desinfecteer en reinig alle werkoppervlakken in het laboratorium grondig met een vers bereide oplossing van 0,5% natriumhypochloriet in gedestilleerd of gedeïoniseerd water (verdun huishoudelijk bleekmiddel in het water tot een verhouding van 1:10). Neem het oppervlak vervolgens af met 70% ethanol.

**Opmerking:** *Commercieel vloeibaar huishoudelijk bleekmiddel bevat gewoonlijk natriumhypochloriet in een concentratie van 5,25%. Een 1:10 verdunning van huishoudelijke bleekmiddel levert een natriumhypochlorietoplossing van 0,5% op.*

## Besmetting

- Er moeten handschoenen worden gedragen en tussen de hantering van monsters en reagentia van de cobas® Factor II- en Factor V-test worden vervangen om besmetting te voorkomen. Voorkom besmetting van de handschoenen bij hantering van monsters.
- Handschoenen moeten worden vervangen voordat de omgevingen voor de DNA-isolatie worden verlaten of als contact met oplossingen of een monster wordt vermoed.
- Voorkom microbiële besmetting van reagentia.

- De werkomgeving voor de amplificatie en detectie moet grondig worden gereinigd voordat de werkende MMX wordt voorbereid. Voorraden en uitrusting moeten vast aan elke activiteit worden toegewezen en mogen niet voor andere activiteiten worden gebruikt of tussen omgevingen worden verplaatst. Pipetten en voorraden die voor DNA-isolatie worden gebruikt, mogen bijvoorbeeld niet worden gebruikt voor het voorbereiden van reagentia op de amplificatie en detectie.
- Het wordt sterk aanbevolen om de workflow in het laboratorium op sequentiële wijze te laten verlopen en de ene activiteit eerst af te ronden alvorens met de volgende activiteit verder te gaan. Zo moet de DNA-isolatie bijvoorbeeld worden voltooid voordat met de amplificatie en detectie wordt begonnen. De DNA-isolatie moet worden uitgevoerd in een omgeving die afgescheiden is van de omgeving waar de amplificatie en detectie worden uitgevoerd. Om besmetting van de werkende master mix met DNA-monsters te voorkomen, moet de werkomgeving voor de amplificatie en detectie grondig worden gereinigd voordat de voorbereiding van de master mix wordt uitgevoerd.

## Integriteit

- Gebruik kits niet als de uiterste gebruiksdatum is verstreken.
- Voeg reagentia uit verschillende sets of partijen niet samen.
- Combineer geen reagensflesjes van verschillende setpartijen.
- Gebruik wegwerpartikelen niet als de uiterste gebruiksdatum ervan is verstreken.
- Alle wegwerpartikelen zijn slechts bedoeld voor eenmalig gebruik. Gebruik deze niet nogmaals.
- Gebruik geen reagentia of bakjes die zichtbaar beschadigd zijn of tekenen van lekkage vertonen.
- Alle apparatuur moet juist worden onderhouden volgens de instructies van de fabrikant.

## Afvoeren

- **F2F5 MMX, F2F5 COFACTOR, F2F5 PC en F2F5 NC** bevatten natriumazide. Natriumazide kan reageren met loden en koperen leidingen en uiterst explosieve metaalazides produceren. Wanneer natriumazide bevattende oplossingen via laboratoriumgootstenen worden afgevoerd, moet de afvoer met een grote hoeveelheid koud water worden doorgespoeld om ophoping van azide te voorkomen.
- Voer ongebruikte reagentia en afval af conform de nationale, regionale en plaatselijke voorschriften.

## Morsen en reinigen

- Als er potentieel besmettelijke stoffen worden gemorst, reinig het betroffen gebied dan eerst met laboratorium-reinigingsmiddel en water en vervolgens met 0,5% natriumhypochloriet.
- Als er iets op het **cobas® 4800** instrument wordt gemorst, volg dan de reinigingsinstructies in de **gebruikershulp van het cobas® 4800-systeem**.
- Gebruik geen natriumhypochlorietoplossing (bleekmiddel) voor het reinigen van de **cobas z 480** analyzer. Reinig de **cobas z 480** analyzer volgens de procedures die in de **gebruikershulp van het cobas® 4800-systeem** zijn beschreven.
- Raadpleeg de **gebruikershulp van het cobas® 4800-systeem** voor aanvullende waarschuwingen, voorzorgsmaatregelen en procedures voor het verkleinen van het risico op besmetting voor de **cobas z 480** analyzer.

## Afname, vervoer en opslag van monsters

*Opmerking: Behandel alle monsters tijdens de verwerking alsof overdracht van infectieuze stoffen door de monsters mogelijk is.*

### Verzameling en hantering van monsters

De cobas® Factor II- en Factor V-test is ontwikkeld voor gebruik op genoom-DNA geïsoleerd uit monsters humaan volbloed dat met K<sub>2</sub>EDTA is anti-gecoaguleerd. DNA dat uit volbloedmonsters is geïsoleerd, kan onmiddellijk worden getest of worden opgeslagen volgens de aanbevelingen van de gebruikte DNA-isolatieset.

### Vervoer, opslag en stabiliteit van monsters

Volbloedmonsters die met K<sub>2</sub>EDTA zijn anti-gecoaguleerd, kunnen bij 2 °C tot 30 °C of in bevroren toestand (Tabel 1) worden vervoerd. cobas® Factor II- en Factor V-tests op volbloedmonsters die één tot drie keer waren bevroren en ontdooid, leverden telkens dezelfde resultaten op. Het vervoer van volbloedmonsters moet voldoen aan landelijke, regionale en plaatselijke voorschriften voor het vervoer van etiologische agentia.<sup>11</sup>

**Tabel 1 Stabiliteit van volbloed**

Opslagtemperatuur volbloed	15 °C tot 30 °C	2 °C tot 8 °C	-15 °C tot -25 °C
Opslagtermijn	Max. 3 dagen	Max. 7 dagen	Max. 6 weken

### Opslag en stabiliteit van verwerkte monsters

Genoom-DNA dat uit volbloedmonsters is geïsoleerd en met K<sub>2</sub>EDTA is anti-gecoaguleerd, kan onmiddellijk worden getest of worden opgeslagen volgens de aanbevelingen van de gebruikte DNA-isolatieset. Geïsoleerd DNA moet binnen de aanbevolen opslagperiode worden gebruikt of vóór de uiterste gebruiksdatum van de commerciële DNA-isolatieset waarmee het DNA wordt geëxtraheerd, afhankelijk van welke datum eerder valt. Zoals blijkt uit Tabel 2 bevorderen in-house tests de stabiliteit van genoom-DNA. Alvorens opgeslagen genoom-DNA-monsters te gebruiken, dient u het buisje met het monster te puls vortexen. cobas® Factor II- en Factor V-tests op genoom-DNA-monsters die één tot drie keer waren bevroren en ontdooid, leverden telkens dezelfde resultaten op.

**Tabel 2 Stabiliteit van genoom-DNA**

Opslagtemperatuur van geëxtraheerd DNA	2 °C tot 8 °C*	-15 °C tot -25 °C*
Opslagtermijn	Max. 7 dagen	Max. 6 weken

\* Gegevens verkregen met behulp van drie commercieel verkrijgbare DNA-isolatiemethoden.

# Testprocedure

## De test uitvoeren

**Tabel 3** Workflow van cobas® Factor II- en Factor V-test

1	Voer een DNA-isolatie uit als er nog geen DNA uit de volbloedmonsters is geïsoleerd.
2	Verwijder de DNA-monsters en testreagentia uit de opslag.
3	Start het <b>cobas</b> ® 4800-systeem
4	Voer onderhoud aan het instrument uit.
5	Maak een werkorder en druk de plaatlay-out af.
6	Bereid de amplificatiereagentia voor.
7	Laad de microwellplaat met amplificatiereagentia.
8	Laad de microwellplaat met monsters en controles.
9	Dicht de microwellplaat af.
10	Laad de microwellplaat op de <b>cobas z</b> 480 analyzer.
11	Start de run.
12	Controleer de resultaten.
13	Bij LIS: zend de resultaten naar LIS.
14	Verwijder de plaat uit de analyzer.

## Gebruiksaanwijzing

*Opmerking: Raadpleeg de gebruikershulp van het cobas® 4800-systeem voor gedetailleerde bedieningsinstructies voor de cobas z 480 analyzer.*

## Run-omvang

Per run kunnen één tot 94 monsters en twee controles per microwellplaat met 96 wells worden getest. De set met de **cobas**® Factor II- en Factor V-test bevat voldoende reagentia voor het testen van 96 monsters in maximaal acht testbatches per set.

## DNA-isolatie

1. Isoleer genoom-DNA van humaan volbloed dat met K<sub>2</sub>EDTA anti-gecoaguleerd is, met behulp van een DNA-isolatiemethode die heldere en kleurloze genoom-DNA-monsters met een toereikende concentratie ( $\geq 0,1$  ng/ $\mu$ l) kan produceren.
2. **F2F5 NC** kan in de DNA-isolatieprocedure als een controle op besmetting tijdens de DNA-isolatie worden gebruikt, dan wel rechtstreeks, zonder verwerking, in de **cobas**® Factor II- en Factor V-test worden gebruikt.
3. **F2F5 PC** wordt gebruikt in de **cobas**® Factor II- en Factor V-test zonder DNA-isolatie. Verricht geen DNA-isolatie op **F2F5 PC**.
4. Geïsoleerd genoom-DNA kan onmiddellijk met de **cobas**® Factor II- en Factor V-test worden getest dan wel worden opgeslagen volgens de aanbevelingen van de fabrikant van de DNA-isolatieset.

## Amplificatie en detectie

**Opmerking:** *Om besmetting van werkende MMX met DNA-monsters te voorkomen, moeten de amplificatie en detectie worden uitgevoerd in een omgeving die afgescheiden is van de omgeving waar de DNA-isolatie wordt uitgevoerd. De werkomgeving voor de amplificatie en detectie moet grondig worden gereinigd voordat de werkende MMX wordt voorbereid. Voor een goede reiniging moeten alle oppervlakken, inclusief de rekken en pipetten, eerst met een 0,5% natriumhypochlorietoplossing en vervolgens met een oplossing van 70% ethanol grondig worden afgenomen. Commercieel vloeibaar huishoudelijk bleekmiddel bevat gewoonlijk natriumhypochloriet in een concentratie van 5,25%. Een 1:10 verdunning van huishoudelijke bleekmiddel levert een natriumhypochlorietoplossing van 0,5% op.*

## Werkorder en plaatlay-out

Raadpleeg de **gebruikershulp van het cobas**® 4800-systeem voor gedetailleerde instructies voor de stappen van deze workflow.

Genereer een werkorder en plaatlay-out met de posities van alle monsters en controles in de run. **F2F5 PC** wordt op positie A01 van de plaat aangebracht en **F2F5 NC** op positie B01. Vervolgens worden de genoom-DNA-monsters toegevoegd, beginnend bij positie C01 tot en met H01, C02 tot en met H02 enz., zoals weergegeven in Tabel 4.

**Tabel 4** Plaatlay-out voor cobas® Factor II- en Factor V-test

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

<sup>a</sup> PC = **F2F5 PC**<sup>b</sup> NC = **F2F5 NC**<sup>c</sup> S = monster

## Instrumenten instellen

- Schakel de **cobas z** 480 analyzer in. Voordat er een run kan worden uitgevoerd, heeft het instrument enkele minuten nodig om op te warmen.
- Schakel de control unit in. De control unit meldt zich automatisch aan bij Windows.
- Dubbelklik op het pictogram van de **cobas®** 4800-software en meld u aan om de run met behulp van de ID en het wachtwoord van de opgegeven laboratoriumgebruiker uit te voeren.
- Klik in het menu op het pictogram “New Run”.
- Het dialoogvenster “Select Test” wordt weergegeven. Selecteer het workflowtype “PCR Only”, selecteer vervolgens “F2F5” en klik op de knop “OK”.
- Klik in het scherm “Work Place” dat nu wordt weergegeven in het veld “Microwell Plate ID” en typ of scan de streepjescode van de microwellplaat (MWP) in. Voer in het veld “Comments” desgewenst opmerkingen in.
- Klik in het veld “F2F5 Test Kit-ID” op de eerste setstreepjescoderij en typ of scan de ID-streepjescode van de set met de **cobas®** Factor II- en Factor V-test. Voer in het veld “Specimen” op dezelfde rij het aantal monsters in dat tijdens de run moet worden getest.
  - Als er een enkele setpartij wordt gebruikt, kunt u max. 94 monsters op de eerste setstreepjescoderij invoeren (2 resultaten worden gereserveerd voor de **F2F5 PC** en **F2F5 NC**).
  - Als er meerdere sets uit dezelfde partij worden gebruikt (max. 4 sets), voert u in het veld “F2F5 Test Kit-ID” van de eerste regel de ID-streepjescode van de set met de **cobas®** Factor II- en Factor V-test in en in het veld “Specimen” het aantal monsters dat met de betreffende set moet worden getest en gebruikt u voor elke volgende set de volgende setstreepjescoderij.
  - Per AD-plaat kunnen maximaal 94 monsters en 2 controles worden getest.
- Het veld “Sample ID” wordt voor de controleposities (A01 en B01) automatisch ingevuld. Typ of scan in de kolom “Sample ID” het monster-ID voor elk monster. Elk monster-ID binnen dezelfde run moet uniek zijn. De velden “Kit” en “Sample Type” worden automatisch ingevuld.

9. Selecteer voor elk monster bij “Requested Result”: “F2” als u uitsluitend Factor II wilt testen, “F5” als u uitsluitend Factor V wilt testen of “F2F5” als u zowel Factor II als Factor V wilt testen.
10. Voer desgewenst voor elk monster opmerkingen in.
11. Nadat u alle informatie hebt ingevoerd, klikt u op de knop “Save” rechtsonder in het scherm.
12. Sla het bestand op met de standaardbestandsnaam die door de software is toegewezen.
13. Druk een plaatlay-out af met de posities van alle monsters en controles in de run door op de knop “Print” te klikken en “File -> Print” te selecteren in het venster “Preview”. Vul de plaat altijd kolomsgewijs, beginnend met de controle **F2F5 PC** op positie A01 en de controle **F2F5 NC** op positie B01. Map de monsters van positie C01 tot en met H01, en ga vervolgens verder met de posities A02 tot en met H02, A03 tot en met H03, enzovoort, totdat alle samples zijn gemapt.

## Reactie voorbereiden

### Vorbereiding van werkende master mix

**Opmerking:** De F2F5 MMX en werkende MMX (MMX en COFACTOR) zijn lichtgevoelig en moeten tegen langdurige blootstelling aan licht worden beschermd. De werkende MMX moet in het donker bij een temperatuur van 2 °C tot 8 °C worden bewaard.

**Opmerking:** De geïsoleerde DNA-monsters en controles moeten binnen 1 uur na voorbereiding van de werkende MMX worden toegevoegd. De amplificatie moet binnen 1 uur na toevoeging van de verwerkte monsters en controles aan de werkende MMX worden gestart.

**Opmerking:** De F2F5 MMX kan er lichtblauw/paars uitzien. Dit heeft geen invloed op de prestaties van het reagens.

1. Bereken het benodigde volume van F2F5 MMX met behulp van de volgende formule:

$$\text{Benodigd volume van F2F5 MMX} = (\text{aantal monsters} + 2 \text{ controles} + 1) \times 20 \mu\text{l}$$

2. Bereken het benodigde volume van F2F5 COFACTOR met behulp van de volgende formule:

$$\text{Benodigd volume van F2F5 COFACTOR} = (\text{aantal monsters} + 2 \text{ controles} + 1) \times 5 \mu\text{l}$$

Tabel 5 is een hulpmiddel voor het vaststellen van de volumes van F2F5 MMX en F2F5 COFACTOR die nodig zijn voor de voorbereiding van de werkende MMX op basis van het aantal monsters in de run.

**Tabel 5 Reagensvolumes voor werkende MMX**

		Aantal monsters <sup>a</sup>						
		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
Totaal volume werkende MMX (µl)		100	125	150	225	300	375	675

<sup>a</sup> MMX- en COFACTOR-volumes gebaseerd op het aantal te testen monsters + 2 controles + 1 extra reactie.

3. Neem het juiste aantal flesjes met F2F5 MMX en F2F5 COFACTOR uit de opslag van 2 °C tot 8 °C. Vortex elke reagens gedurende 5 seconden en verzamel vóór gebruik de vloeistof onder in de buis.

4. Label een steriele microcentrifugebuis voor werkende MMX voor elke set van maximaal 24 monsters.
5. Voeg het berekende volume van **F2F5 MMX** toe aan de gelabelde buis.
6. Voeg het berekende volume van **F2F5 COFACTOR** toe aan de gelabelde buis.
7. Vortex de buis met werkende MMX gedurende 3 tot 5 seconden om voor een goede menging te zorgen.

**Opmerking:** *De monsters en controles moeten binnen 1 uur na de voorbereiding van de werkende MMX aan de microwellplaat (AD-plaat) worden toegevoegd.*

**Opmerking:** *Gebruik uitsluitend cobas® 4800-systeem microwellplaat (AD-plaat) en afdichtfilm.*

## Vorbereiding van de plaat

**Opmerking:** *Als u opgeslagen genoom-DNA-monsters gebruikt, volgt u de instructies in de paragraaf “Opslag en stabiliteit van verwerkte monsters”.*

1. Pipetteer volgens de eerder gegenereerde plaatlay-out 25 µl werkende **MMX** in elke reactiewell van de microwellplaat (AD-plaat) die tijdens de run zal worden gebruikt. Zorg dat de uiteinden van de pipet de plaat niet buiten de wells raken.
2. Pipetteer 25 µl **F2F5 PC** in well **A01** van de microwellplaat (AD-plaat); meng de well met behulp van de pipet om deze te beluchten en voeg minimaal twee keer vloeistof toe.
3. Pipetteer met behulp van nieuwe pipetuiteinden 25 µl **F2F5 NC** in well **B01** van de microwellplaat (AD-plaat); meng de well met behulp van de pipet om deze te beluchten en voeg minimaal twee keer vloeistof toe.

**Opmerking:** *Bij elke run moet well A01 F2F5 PC bevatten en well B01 F2F5 NC, anders wordt de run door de cobas z 480 analyzer ongeldig verklaard.*

**Opmerking:** *Vervang uw handschoenen zo vaak als nodig is om besmetting van monster tot monster en externe PCR-reactiebuisbesmetting te voorkomen.*

4. Voeg, met behulp van een nieuw pipetuiteinde voor elk monster, 25 µl van elk DNA-monster toe aan de juiste well van de microwellplaat (AD-plaat). Ga hierbij te werk volgens de hiervoor voorbereide plaatlay-out en begin vanaf positie C01. Meng elke well met behulp van de pipet om deze te beluchten en voeg minimaal twee keer vloeistof toe. Controleer of alle vloeistof zich op de bodem van de wells heeft verzameld.

**Opmerking:** *Pulsvortex opgeslagen genoom-DNA-monsters vóór gebruik.*

5. Dek de microwellplaat (AD-plaat) af met afdichtfilm (die met de platen wordt meegeleverd). Gebruik de afdichtfilm-applicator om de film goed op de microwellplaat (AD-plaat) aan te brengen.
6. Controleer alvorens de PCR te starten of alle vloeistof zich op de bodem van de wells heeft verzameld.

**Opmerking:** *De amplificatie moet binnen 1 uur na toevoeging van de verwerkte monsters en controles aan de werkende MMX worden gestart.*

## PCR starten

Raadpleeg de **gebruikershulp van het cobas® 4800-systeem** voor gedetailleerde instructies over de workflowstappen.

# Resultaten

## Interpretatie van resultaten

*Opmerking: De volledige validatie van de run en monsters wordt uitgevoerd door de cobas® 4800 software.*

*Opmerking: Een geldige testrun kan zowel geldige als ongeldige testresultaten bevatten.*

Voor een geldige run worden de monsterresultaten geïnterpreteerd zoals aangegeven in Tabel 6.

**Tabel 6 Interpretatie van resultaten cobas® Factor II- en Factor V-test**

Testresultaat	Beoordeling
WT F2	Het genoom-DNA-monster is van het wilde type voor de Factor II (protrombine)-mutatie. Het nucleotide op positie 20210 van het Factor II-gen is G op beide allelen.
HET F2	Het genoom-DNA-monster is heterozygoot voor de Factor II (protrombine)-mutatie. Het nucleotide op positie 20210 van het Factor II-gen is G op één allel en A op één allel.
MUT F2	Het genoom-DNA-monster is homozygoot mutant voor de Factor II (protrombine)-mutatie. Het nucleotide op positie 20210 van het Factor II-gen is A op beide allelen.
WT F5	Het genoom-DNA-monster is van het wilde type voor de Factor V (Leiden)-mutatie. Het nucleotide op positie 1691 van het Factor V-gen is G op beide allelen.
HET F5	Het genoom-DNA-monster is heterozygoot voor de Factor V (Leiden)-mutatie. Het nucleotide op positie 1691 van het Factor V-gen is G op één allel en A op één allel.
MUT F5	Het genoom-DNA-monster is homozygoot mutant voor de Factor V (Leiden)-mutatie. Het nucleotide op positie 1691 van het Factor V-gen is A op beide allelen.
Invalid	Monsterresultaat is ongeldig. Herhaal de test van de monsters met ongeldige resultaten volgens de instructies in de paragraaf "Monsters met ongeldige resultaten opnieuw testen" hieronder.
Failed	Mislukte run als gevolg van hardware- of softwarefout. Neem contact op met het dichtstbijzijnde Roche-kantoor voor technische bijstand.

## Monsters met ongeldige resultaten opnieuw testen

1. Als de run ongeldig is, herhaalt u de volledige testprocedure voor alle monsters, te beginnen met het genoom-DNA.
2. Als de run geldig is, maar afzonderlijke monsterresultaten ongeldig zijn, herhaalt u de test voor de ongeldige monsters, te beginnen met het genoom-DNA. Als de herhaalde test nog steeds ongeldig is, herhaalt u de isolatie van genoom-DNA uit de volbloedmonsters.

## Kwaliteitscontrole en geldigheid van resultaten

Bij elke run wordt één set cobas® Factor II- en Factor V-controles (F2F5 PC en F2F5 NC) gebruikt. Een run is geldig als zowel F2F5 PC en F2F5 NC geldig zijn. Als F2F5 PC of F2F5 NC ongeldig is, is de volledige run ongeldig en moet deze worden herhaald. Als F2F5 PC of F2F5 NC voortdurend ongeldig is, neemt u contact op met het dichtstbijzijnde Roche-kantoor voor technische bijstand.

## Lijst met resultaatvlaggen

De resultaatvlaggen zijn te vinden op het tabblad “Results”. De bron van een vlag wordt aangegeven in de vlagcode, zoals te zien is in de volgende Tabel 7. Tabel 8 biedt een overzicht van alle resultaatinterpretatievlaggen die relevant zijn voor de gebruiker.

**Tabel 7 Vlagbronnen**

Vlagcode begint met	Vlagbron	Voorbeeld
M*	Meerdere of andere redenen	M6
R	Resultaatinterpretatie	R20
Z*	Analyzer	Z1

\* Raadpleeg de **gebruikershulp van het cobas® 4800-systeem**.

**Tabel 8 Lijst met resultaatinterpretatievlaggen**

Vlagcode	Ernst	Beschrijving	Aanbevolen actie
R2900, R2904, R2908, R2912	Fout	Pos. controle ongeldig	Herhaal de run. Raadpleeg de testspecifieke instructies voor gebruik. Deze vlagcodes geven aan dat het elleboogbepalingsalgoritme een fout heeft waargenomen die kan optreden bij een atypisch fluorescentiepatroon of een fluorescentiepatroon met veel ruis.
R2901, R2905, R2909, R2913	Fout	Pos. controle ongeldig	Herhaal de run. Raadpleeg de testspecifieke instructies voor gebruik. Deze vlagcodes geven aan dat in ten minste één kanaal voor de positieve controle een negatief resultaat is opgetreden.
R2902, R2906, R2910, R2914	Fout	Pos. controle ongeldig	Herhaal de run. Raadpleeg de testspecifieke instructies voor gebruik. Deze vlagcodes geven aan dat een waargenomen Ct-waarde voor de positieve controle boven de vastgestelde drempelwaarde lag (d.w.z. elleboog te hoog). Mogelijke redenen: 1. Onjuiste voorbereiding van de werkende Master Mix. 2. Pipetteerfout tijdens het toevoegen van werkende Master Mix in een well van de microwellplaat. 3. Pipetteerfout tijdens het toevoegen van de positieve controle in een well van de microwellplaat.
R2903, R2907, R2911, R2915	Fout	Pos. controle ongeldig	Herhaal de run. Raadpleeg de testspecifieke instructies voor gebruik. Deze vlagcodes geven aan dat een waargenomen Ct-waarde voor de positieve controle onder de vastgestelde drempelwaarde lag (d.w.z. elleboog te laag). Deze fout kan zich voordoen bij een DNA-besmetting.
R2916	Fout	Positieve controle niet waargenomen	Herhaal de run. Raadpleeg de testspecifieke instructies voor gebruik. Deze vlagcode geeft aan dat er een negatief resultaat is opgetreden voor de positieve controle in alle kanalen. Mogelijk is er geen DNA van de positieve controle aan de controlewell toegevoegd.
R2917, R2919, R2921, R2923	Fout	Neg. controle ongeldig	Herhaal de run. Raadpleeg de testspecifieke instructies voor gebruik. Deze vlagcodes geven aan dat het elleboogbepalingsalgoritme een fout heeft waargenomen die kan optreden bij een atypisch fluorescentiepatroon of een fluorescentiepatroon met veel ruis.
R2918, R2920, R2922, R2924	Fout	Neg. controle ongeldig	Herhaal de run. Raadpleeg de testspecifieke instructies voor gebruik. Deze vlagcodes geven aan dat er een positief resultaat is opgetreden voor de negatieve controle (d.w.z. er heeft zich een besmetting voorgedaan).
R2925, R2928, R2931, R2934, R2940, R2941, R2942, R2943	Fout	Resultaat ongeldig	Herhaal de run. Raadpleeg de testspecifieke instructies voor gebruik. Deze vlagcodes geven aan dat het elleboogbepalingsalgoritme een fout heeft waargenomen die kan optreden bij een atypisch fluorescentiepatroon of een fluorescentiepatroon met veel ruis.
R2926, R2929, R2932, R2935	Fout	Resultaat ongeldig	Herhaal de run. Raadpleeg de testspecifieke instructies voor gebruik. Deze vlagcodes geven aan dat er een atypisch hoge Ct-waarde voor het monster is waargenomen.

Vlagcode	Ernst	Beschrijving	Aanbevolen actie
R2927, R2930, R2933, R2936	Fout	Resultaat ongeldig	Herhaal de run. Raadpleeg de testspecifieke instructies voor gebruik. Deze vlagcodes geven aan dat er een atypisch lage Ct-waarde voor het monster is waargenomen.
R2937, R2938	Fout	Resultaat ongeldig	Herhaal het monster. Raadpleeg de testspecifieke instructies voor gebruik. Deze vlagcodes geven aan dat de resultaten voor een van de genen (d.w.z. Factor II of Factor V) niet geldig waren. Het ontbreken van een geldig resultaat voor beide genen verwijdt de interne controlefunctie die elk gen voor het andere gen vervult en suggereert: 1. Genoom-DNA van slechte kwaliteit uit het monster. 2. Een niet-adequate monsterverwerking. 3. De aanwezigheid van PCR-remmers in het monster. 4. Zeldzame mutaties binnen de regio's van het genoom-DNA die de primers en/of probes beslaan. 5. Mogelijk is aan een of meer wells geen DNA van monsters toegevoegd. 6. Andere factoren.
R2939	Fout	Doelen niet gedetecteerd	Herhaal de run. Raadpleeg de testspecifieke instructies voor gebruik. Deze vlagcode geeft aan dat er een negatief resultaat is opgetreden voor het monster in alle kanalen. Mogelijk is er geen genoom-DNA aan de well toegevoegd.
R2944, R2945	Fout	Resultaat ongeldig	Herhaal het monster. Raadpleeg de testspecifieke instructies voor gebruik. Deze vlagcodes geven aan dat er voor het monster een atypisch verband tussen bepaalde gegevensanalyseparameters is waargenomen.

## Procedurele beperkingen

- Geldige resultaten zijn afhankelijk van de hoeveelheid genoom-DNA in het monster en kunnen worden beïnvloed door de integriteit van het monster, de concentratie van het geïsoleerde DNA en de aanwezigheid van storende stoffen.
- DNA-isolatiemethoden moeten in staat zijn genoom-DNA op te leveren dat helder en kleurloos is, en een concentratie van  $\geq 0,1$  ng/ $\mu$ l heeft.
- Hemoglobine is een remmer van PCR. Genoom-DNA dat uit volbloed wordt geïsoleerd, moet er helder en kleurloos uitzien. Monsters die een rode, roze of roestkleurige tint, kleur of een ander dan helder en kleurloos uiterlijk hebben, kunnen ongeldige of onjuiste resultaten opleveren en mogen niet worden getest.
- Betrouwbare resultaten zijn afhankelijk van een adequaat vervoer en adequate opslag en verwerking. Volg de procedures in deze instructies voor gebruik, en in de **gebruikershulp van het cobas® 4800-systeem**.
- De toevoeging van AmpErase-enzym aan de Master Mix van de cobas® Factor II- en Factor V-test maakt selectieve amplificatie van doel-DNA mogelijk; goede laboratoriumpraktijken en een zorgvuldige naleving van de procedures die in deze instructies voor gebruik zijn vastgelegd, zijn echter noodzakelijk om besmetting van reagentia te voorkomen.
- Het gebruik van dit product moet voorbehouden blijven aan personeel dat is opgeleid in de PCR-technieken en het gebruik van het cobas® 4800-systeem.
- Alleen de **cobas z 480** analyzer is gevalideerd voor gebruik in combinatie met dit product. Geen enkele andere thermische cycler met real-time optische detectie kan in combinatie met dit product worden gebruikt.
- Vanwege inherente verschillen tussen technologieën wordt aanbevolen dat gebruikers die van de ene technologie naar de andere overschakelen, eerst de correlaties van de methoden in hun laboratorium onderzoeken om de verschillen tussen de technologieën in kaart te brengen.

9. Hoewel deze zeldzaam zijn, kunnen mutaties binnen de genoom-DNA-regio's van het Factor II-gen en Factor V-gen die door de in de cobas® Factor II- en Factor V-test gebruikte primers of probes worden gedekt, ertoe leiden dat de aanwezigheid van de Factor II G20210A-mutatie of de Factor V G1691A-mutatie niet wordt waargenomen.
10. De aanwezigheid van PCR-remmers kan tot ongeldige of onjuiste resultaten leiden.
11. Commerciële DNA-isolatiesets bevatten vaak een chaotroop zout, zoals guanidinehydrochloride, in het lysisreagens en ethanol in de wasbuffer. Chaotrope zouten of ethanol in genoom-DNA-monsters kunnen ongeldige of onjuiste resultaten veroorzaken. Volg de instructies van de fabrikant voor de DNA-isolatiemethoden om ervoor te zorgen dat de lysisreagentia en wasbuffers correct worden verwijderd tijdens het DNA-isolatieproces.

## Niet-klinische evaluatie

De volgende gegevens zijn bedoeld om de analytische prestaties van de cobas® Factor II- en Factor V-test aan te tonen.

### Analytische gevoeligheid

Voor het bepalen van de minimale invoer van genoom-DNA die nodig is om juiste genotyperesultaten voor Factor II en Factor V te verkrijgen, is met behulp van drie verschillende commerciële DNA-isolatiemethoden voor volbloedmonsters en één methode voor de cellijn genoom-DNA geïsoleerd uit drie K<sub>2</sub>EDTA-volbloedmonsters (Factor II heterozygoot, Factor V heterozygoot, Factor V homozygoot mutant) en één cellijn (Factor II homozygoot mutant). Elk genoom-DNA-monster werd met de cobas® Factor II- en Factor V-test op 10 concentraties getest: onverdund (wat varieerde van 6 tot 38 ng/μl) en negen seriële verdunningen van 1,0 tot 0,0001 ng/μl. Elke verdunning werd met 24 replicaten met elk twee setpartijen getest, voor een totaal van 48 replicaten per concentratie genoom-DNA-monster. De onverdunde genoom-DNA-monsters werden met zes replicaten met elke setpartij getest, voor een totaal van 12 replicaten per genoom-DNA-monster.

Het percentage juiste Factor II- en Factor V-genotyperesultaten over alle vier de monsters, alle drie de DNA-isolatiemethoden en beide setpartijen bedroeg 98% bij 0,01 ng/μl en 100% bij alle hogere concentraties (Tabel 9). De cobas® Factor II- en Factor V-test is ontworpen om ongeldige resultaten op te leveren als de concentratie van het ingevoerde DNA te laag is. Er waren geen onjuiste genotyperesultaten in de studie. De detectielimiet lag bij 0,01 ng/μl, wat 10 keer lager is dan de laagst aanbevolen concentratie voor het ingevoerde DNA.

**Tabel 9 Analytische gevoeligheid van cobas® Factor II- en Factor V-test**

Concentratie (ng/µl)	Aantal	Resultaten van de cobas® Factor II- en Factor V-test		
		Aantal (%) juist	Aantal (%) onjuist	Aantal (%) ongeldig
Onverdund*	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 tot 38 ng/µl

## Bovenste limiet van DNA-invoer

Om hogere DNA-invoerconcentraties voor de cobas® Factor II- en Factor V-test te evalueren, werd uit vier K<sub>2</sub>EDTA-volbloedmonsters genoom-DNA geïsoleerd met behulp van drie verschillende commerciële DNA-isolatiemethoden en werd geconcentreerd genoom-DNA uit cellijnen toegevoegd om totale DNA-concentraties van 300 ng/µl, 150 ng/µl en 75 ng/µl te verkrijgen. Genoom-DNA uit cellijnen met Factor II heterozygoot, Factor V heterozygoot en Factor V homozygoot mutant werd toegevoegd aan genoom-DNA uit volbloedmonsters van dezelfde Factor II- en Factor V- genotypen. DNA uit een cellijn met Factor II homozygoot mutant werd toegevoegd aan genoom-DNA van een monster volbloed waaruit de leukocyten waren verwijderd (*Leukocyte Depleted Whole Blood* — LDWB). De genoom-DNA-monsters van 300 ng/µl, 150 ng/µl en 75 ng/µl werden met 24 replicaten met elk twee setpartijen getest, voor een totaal van 48 replicaten per concentratie genoom-DNA-monster. De genoom-DNA-monsters van volbloed zonder toegevoegd cellijn-DNA werden met zes replicaten met elk twee setpartijen getest, voor een totaal van 12 replicaten per genoom-DNA-monster. Alle monsters van 300 ng/µl, 150 ng/µl en 75 ng/µl leverden bij alle tests juiste Factor II- en Factor V- genotyperesultaten op (Tabel 10). De LDWB-monsters zonder toegevoegd cellijn-DNA leverden, zoals verwacht, ongeldige resultaten op; de andere genoom-DNA-monsters van volbloed leverden juiste Factor II- en Factor V- resultaten op. De hoogst aanbevolen concentratie DNA-invoer is 150 ng/µl, de helft van de geteste maximale invoer.

**Tabel 10 Tests met hoger geconcentreerde DNA-invoeren voor cobas® Factor II- en Factor V-test**

Concentratie (ng/µl)	Aantal	Resultaten van de cobas® Factor II- en Factor V-test		
		Aantal (%) juist	Aantal (%) onjuist	Aantal (%) ongeldig
300	576	576 (100%)	0 (0%)	0 (0%)
150	576	576 (100%)	0 (0%)	0 (0%)
75	576	576 (100%)	0 (0%)	0 (0%)
Zonder toegevoegd cellijn-DNA <sup>a</sup>	144	144 <sup>b</sup> (100%)	0 (0%)	0 (0%)

<sup>a</sup> 6 tot 38 ng/µl<sup>b</sup> Genoom-DNA van volbloedmonsters waaruit de leukocyten waren verwijderd, leverde, zoals verwacht, ongeldige resultaten op. Deze resultaten worden in deze tabel ingedeeld als "juist" in plaats van "ongeldig".

## Reproduceerbaarheid van de DNA-isolatie

Uit vijftien volbloedmonsters werd met behulp van drie commercieel verkrijgbare DNA-isolatiemethoden volgens de instructies van de fabrikant, door twee operators op drie dagen genoom-DNA geïsoleerd, voor in totaal zes DNA-isolaties per monster voor elke DNA-isolatiemethode. Elk geïsoleerde genoom-DNA-monster werd in drievoud getest met de cobas® Factor II- en Factor V-test (Tabel 11). Honderd procent van de resultaten met de cobas® Factor II- en Factor V-test kwam overeen met de Factor II- en Factor V-genotyperingen door bi-directionele Sanger DNA-sequencing. Eén genoom-DNA-monster, dat met methode A was geïsoleerd, werd van de resultaten uitgesloten. Het was roestkleurig en leverde bij alle drie de tests ongeldige resultaten op. Geïsoleerde DNA-monsters moeten een helder en kleurloos uiterlijk hebben. DNA-monsters met een ander dan helder en kleurloos uiterlijk dienen niet te worden getest omdat deze ongeldige of onjuiste resultaten kunnen opleveren.

**Tabel 11** Reproduceerbaarheid van DNA-isolatie

DNA-isolatiemethode	Totaal aantal		Aantal (%)						
	DNA-isolaties	Tests	Juiste resultaten			Onjuiste resultaten		Ongeldige resultaten	
A	89 <sup>a</sup>	267 <sup>a</sup>	267 <sup>a</sup>	(100,0%)	[98,6–100] <sup>b</sup>	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%)
Totaal	269	807	807	(100,0%)	[99,5–100]	0	(0,0%)	0	(0,0%)

<sup>a</sup> Een van de 90 DNA-monsters die met methode A waren geïsoleerd, werd uitgesloten omdat het roestkleurig was. Alleen heldere en kleurloze DNA-monsters dienen te worden getest. DNA-monsters met een ander dan helder en kleurloos uiterlijk dienen niet te worden getest omdat deze ongeldige of onjuiste resultaten kunnen opleveren.

<sup>b</sup> Tweezijdige, onderste 95%-betrouwbaarheidsgrens.

## Analytische specificiteit

Om het effect van bekende single nucleotidepolymorfismen (SNP's) in de buurt van de Factor V (Leiden)-mutatie (G1691A) en de Factor II (protrombine)-mutatie (G20210A) vast te stellen, werd plasmide DNA met acht bekende SNP's (A20207C, C20209T, A20218G, C20221T, G1689A, C1690T, A1692C en A1696G) in de probebindende regio's van de cobas® Factor II- en Factor V-test getest. De Factor II SNP-plasmiden en de Factor V SNP-plasmiden waren van het wilde type op respectievelijk de posities 20210 en 1691. Elk SNP-plasmide-DNA werd alleen getest, en in combinatie met wild type Factor II plasmide-DNA, wild type Factor V plasmide-DNA, wild type Factor II en wild type Factor V plasmide-DNA, en met genoom-DNA van wild type volbloed.

Geen van de SNP-plasmiden veroorzaakte ten onrechte positieve resultaten voor de Factor II (protrombine)- of Factor V (Leiden)-mutaties. Alle vier de Factor II SNP-plasmiden en drie van de vier Factor V SNP-plasmiden werden gedetecteerd als respectievelijk wild type Factor II- of Factor V-DNA. Eén Factor V SNP-plasmide (G1689A) werd niet gedetecteerd door de cobas® Factor II- en Factor V-test. Als dit SNP op beide allelen aanwezig is, zou het testresultaat ongeldig zijn.

## Interfererende stoffen

Triglyceriden (37 mM), bilirubine (geconjugerd en niet-geconjugerd, 342 µM) en cholesterol (13 mM) hadden geen versturende invloed op de cobas® Factor II- en Factor V-test na toevoeging aan volbloed in concentraties die door CLSI werden aanbevolen.<sup>12</sup> Hemoglobine had geen versturende invloed op de cobas® Factor II- en Factor V-test na toevoeging aan volbloed in een concentratie van 20 g/l. Het anticoagulans K<sub>2</sub>EDTA had geen versturende invloed wanneer dit getest werd bij 5,7 mg/ml, wat ongeveer gelijk staat aan 3 maal de concentratie van K<sub>2</sub>EDTA in volbloed wanneer de bloedafnamebuis tot aan zijn capaciteit gevuld is. Heparine, coumadine (Warfarin), rivaroxaban (Xarelto) en dabigatran etexilaat (Pradaxa) hadden geen versturende invloed op de cobas® Factor II- en Factor V-test.

Een commerciële extractiebuffer die guanidine hydrochloride bevatte, een veelvoorkomend bestanddeel in commerciële DNA-extractiebuffers, had een versturende invloed op de cobas® Factor II- en Factor V-test als deze stof in een concentratie van 2,5% (v/v) in genoom-DNA-monsters aanwezig was. Ethanol, een veelvoorkomend bestanddeel in de wasbuffers van commerciële DNA-isolatiemethoden, had een versturende invloed op de cobas® Factor II- en Factor V-test als deze stof in een concentratie van 5% (v/v) aan genoom-DNA-monsters werd toegevoegd. Voor beide stoffen leidde de versturende invloed tot ongeldige resultaten.

## Herhaalbaarheid van partij tot partij

De herhaalbaarheid van partij tot partij van de cobas® Factor II- en Factor V-test werd geëvalueerd door uit zeven K<sub>2</sub>EDTA-volbloedmonsters geïsoleerde genoom-DNA-monsters met cobas® Factor II- en Factor V-tests uit drie verschillende partijen te testen. De studie werd door twee operators uitgevoerd gedurende vijf niet-openvolgende dagen met twee cobas z 480 analyzers, één run per dag per setpartij en twee replicaten per run, voor in totaal 60 replicaten van elk monster (Tabel 12). De resultaten van de cobas® Factor II- en Factor V-tests werden vergeleken met de Factor II- en Factor V-genotyperingen door bi-directionele Sanger DNA-sequencing. De resultaten van de cobas® Factor II- en Factor V-test en van de nucleïnezuursequencing kwamen voor alle monster- en reagentiapartijen voor 100% overeen (eenzijdige, onderste 95%-betrouwbaarheidsgrens: 99,3%).

**Tabel 12 Herhaalbaarheid van partij tot partij**

Monster-ID	Factor II-genotype	Factor V-genotype	Aantal tests per partij	Aantal (%) juiste genotyperesultaten			
				Lot 1	Lot 2	Lot 3	Alle partijen
S1	Wild type	Wild type	20	20 (100%)	20 (100%)	20 (100%)	60 (100%)
S2	Wild type	Wild type	20	20 (100%)	20 (100%)	20 (100%)	60 (100%)
S3	Wild type	Heterozygoot	20	20 (100%)	20 (100%)	20 (100%)	60 (100%)
S4	Heterozygoot	Wild type	20	20 (100%)	20 (100%)	20 (100%)	60 (100%)
S5	Wild type	Homozygoot mutant	20	20 (100%)	20 (100%)	20 (100%)	60 (100%)
S6	Homozygoot mutant	Wild type	20	20 (100%)	20 (100%)	20 (100%)	60 (100%)
S7	Heterozygoot	Heterozygoot	20	20 (100%)	20 (100%)	20 (100%)	60 (100%)
<b>Totaal</b>			<b>140</b>	<b>140 (100%)</b>	<b>140 (100%)</b>	<b>140 (100%)</b>	<b>420 (100%)</b>

# Klinische evaluatie

## Methodecorrelatie: vergelijking met Sanger-sequencing

Volbloed- en DNA-monsters (totaal N = 300) die de beoogde monsterpopulatie vertegenwoordigden werden met behulp van de cobas® Factor II- en Factor V-test op de ene locatie getest. De bi-directionele Sanger-sequencing werd op een andere locatie uitgevoerd. Er werd van een commercieel verkrijgbare handmatige methode voor het prepareren van volbloedmonsters gebruik gemaakt om DNA uit een subset K<sub>2</sub>EDTA-volbloedmonsters te extraheren. Van alle monsters ging het bij 284 om volbloedmonsters die vaak aangetroffen genotypen voor Factor II en Factor V vertegenwoordigden. De meerderheid van de monsters voor het zeldzame genotype Factor II Homozygoot Mutant/Factor V Wild Type waren verkregen als genoom-DNA (gDNA)-monsters zonder geïdentificeerde isolatiemethodologie. De genotypen en monstertypen zijn weergegeven in Tabel 13.

**Tabel 13** Factor II-en Factor V-genotypen en monstertypen die in het onderzoek zijn opgenomen

Factor II (F2)	Factor V (F5)	Type monster
Wild type (WT F2)	Wild type (WT F5)	Volbloed
Wild type (WT F2)	Heterozygoot (HET F5)	Volbloed
Heterozygoot (HET F2)	Wild type (WT F5)	Volbloed
Heterozygoot (HET F2)	Heterozygoot (HET F5)	Volbloed
Wild type (WT F2)	Homozygote mutant (MUT F5)	Volbloed
Homozygote mutant (MUT F2)	Wild type (WT F5)	Volbloed en gDNA

Alle 300 monsters hadden geldige resultaten bij de bi-directionele Sanger-sequencing en de cobas® Factor II- en Factor V-test. Een testresultaat werd als juist voor Factor II of Factor V geïdentificeerd als zowel de cobas® Factor II- en Factor V-test en de Sanger-sequencing hetzelfde genotype detecteerden. Een testresultaat werd als onjuist voor Factor II of Factor V geïdentificeerd als de cobas® Factor II- en Factor V-test en de Sanger-sequencing een ander genotype voor Factor II of Factor V detecteerden.

Het totale percentage van overeenkomst (*Overall Percent Agreement* — OPA) tussen de beide tests voor Factor II bedroeg 100% bij een onderste 95%-betrouwbaarheidsgrens van 99,11%. Zowel het positieve percentage van overeenkomst (*Positive Percent Agreement* — PPA) als het negatieve percentage van overeenkomst (*Negative Percent Agreement* — NPA) bedroegen 100% met bij onderste betrouwbaarheidsgrenzen van respectievelijk 98,24% en 98,22%. Het percentage van overeenkomst voor zowel heterozygote als het homozygote mutante genotype was 100%.

De OPA tussen de beide tests voor Factor V bedroeg 100% bij een onderste 95%-betrouwbaarheidsgrens van 99,11%. Zowel PPA als NPA bedroegen 100% bij een onderste betrouwbaarheidsgrens van 98,26% voor PPA en 98,19% voor NPA. Het percentage van overeenkomst voor zowel heterozygote als het homozygote mutante genotype was 100%.

De gecombineerde resultaten zijn weergegeven in Tabel 14.

**Tabel 14 Prestaties van de cobas® Factor II- en Factor V-test met behulp van bi-directionele Sanger-sequencing als referentie voor de identificatie van de gecombineerde resultaten voor Factor II en Factor V**

Bi-directionele Sanger-sequencing	Resultaten cobas® Factor II- en Factor V-test						Totaal
	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
<b>Totaal</b>	25	105	21	105	23	21	300

## Reproduceerbaarheid

De reproduceerbaarheid van de cobas® Factor II- en Factor V-test voor de detectie en genotypering van de Factor II G20210A- en Factor V (Leiden) G1691A-mutaties werd op drie locaties beoordeeld met behulp van een paneel met negen elementen: vier unieke K<sub>2</sub>EDTA-bloedmonsters, drie gefingeerde bloedmonsters en twee geëxtraheerde genoom-DNA (gDNA)-monsters verdund tot 0,2 ng/µl. Elke locatie extraheerde DNA uit de bloedmonsters met behulp van een van de drie commercieel verkrijgbare handmatige monstervoorbereidingsmethoden. Elke locatie gebruikte een van de drie cobas® Factor II- en Factor V-testpartijen en één instrument, met twee operators per locatie, één run per dag per operator over een periode van 5 niet-aaneengesloten dagen.

Een juist resultaat werd gedefinieerd als overeenkomst tussen het resultaat van de cobas® Factor II- en Factor V-test en het genotype van het paneelelement dat door middel van Sanger-sequencing was bepaald; een onjuist resultaat werd gedefinieerd als niet-overeenkomst tussen het resultaat van de cobas-test en het door de Sanger-sequencing bepaalde genotype van het paneelelement. De resultaten van de cobas® Factor II- en Factor V-test werden bij elk monster voor zowel Factor II als Factor V gerapporteerd en waren geldig of ongeldig voor beide mutaties.

Gedurende 30 geldige runs werden in totaal 540 tests uitgevoerd: 240 betroffen de K<sub>2</sub>EDTA-bloedmonsters, 180 de gefingeerde bloedmonsters en 120 resultaten het gDNA. Onder de 540 resultaten werd één gefingeerd bloedmonster een ongeldig resultaat waargenomen. Alle geldige Factor II- en Factor V-resultaten waren correct, zodat er op alle niveaus sprake was van 100% overeenkomst: genotype, locatie/DNA-isolatiemethode/reagenspartij, type monster, operators en dagen. Het totale ongeldigheidspercentage bedroeg 0,19% (1/540). De onderzoeksresultaten zijn samengevat in Tabel 15 en Tabel 16.

Tabel 15 Samenvatting reproduceerbaarheidsonderzoek — Factor II

Genotype door sequencing <sup>a</sup>	Juiste resultaten/ aantal geteste monsters			Onjuiste resultaten	Ongeldige resultaten <sup>c</sup>	Juiste resultaten/ aantal geldige resultaten (%)	95% LCB <sup>d</sup>
	Locatie 1 <sup>b</sup> / Partij 1 Methode A	Locatie 2 <sup>b</sup> / Partij 2 Methode B	Locatie 3 <sup>b</sup> / Partij 3 Methode C				
<b>WT<sup>e</sup></b>	100/100	100/100	100/100	0	0	300/300 (100%)	99,01
<b>HET<sup>e</sup></b>	60/60	59/60	60/60	0	1	179/179 (100%)	98,34
<b>MUT<sup>f</sup></b>	20/20	20/20	20/20	0	0	60/60 (100%)	95,13

<sup>a</sup> WT: Wild type; HET: Heterozygoot; MUT: Homozygoot mutant

<sup>b</sup> Elke locatie gebruikte een andere DNA-isolatiemethode (A, B, C) en een andere partij voor de cobas® Factor II- en Factor V-test.

<sup>c</sup> Ongeldig resultaat dat niet opnieuw is getest.

<sup>d</sup> Eenzijdige, onderste 95%-betrouwbaarheidsgrens (*Lower Confidence Bound* — LCB).

<sup>e</sup> Op elke locatie waren 20 resultaten afkomstig van gDNA-monsters en 20 van gefingeerde bloedmonsters.

<sup>f</sup> Alleen van gefingeerde bloedmonsters.

Tabel 16 Samenvatting reproduceerbaarheidsonderzoek — Factor V

Genotype door sequencing <sup>a</sup>	Juiste resultaten/ aantal geteste monsters			Onjuiste resultaten	Ongeldige resultaten <sup>c</sup>	Juiste resultaten/ aantal geldige resultaten (%)	95% LCB <sup>d</sup>
	Locatie 1 <sup>b</sup> / Partij 1 Methode A	Locatie 2 <sup>b</sup> / Partij 2 Methode B	Locatie 3 <sup>b</sup> / Partij 3 Methode C				
<b>WT<sup>e</sup></b>	100/100	100/100	100/100	0	0	300/300 (100%)	99,01
<b>HET<sup>e</sup></b>	60/60	59/60	60/60	0	1	179/179 (100%)	98,34
<b>MUT<sup>f</sup></b>	20/20	20/20	20/20	0	0	60/60 (100%)	95,13

<sup>a</sup> WT: Wild type; HET: Heterozygoot; MUT: Homozygoot mutant

<sup>b</sup> Elke locatie gebruikte een andere DNA-isolatiemethode (A, B, C) en een andere partij voor de cobas® Factor II- en Factor V-test.

<sup>c</sup> Ongeldig resultaat dat niet opnieuw is getest.

<sup>d</sup> Eenzijdige, onderste 95%-betrouwbaarheidsgrens (*Lower Confidence Bound* — LCB).

<sup>e</sup> Op elke locatie waren 20 resultaten afkomstig van gDNA-monsters en 20 van gefingeerde bloedmonsters.





















































<sup>f</sup> Alleen van gefingeerde bloedmonsters.

# Aanvullende informatie

## Symbolen

De volgende symbolen worden gebruikt op de etiketten van diagnostische PCR-producten van Roche.

**Tabel 17 Symbolen die worden gebruikt op de etiketten van diagnostische PCR-producten van Roche**

 <b>Age/DOB</b> Leeftijd of geboortedatum	 Apparaat niet voor Near Patient Testing	 <b>QS IU/PCR</b> QS IU per PCR-reactie, gebruik de QS internationale eenheden (IU) per PCR-reactie bij berekening van de resultaten.
 <b>SW</b> Aanvullende software	 Apparaat niet voor zelftesten	 <b>SN</b> Serienummer
 <b>Assigned Range [copies/mL]</b> Toegewezen bereik (kopieën/ml)	 <b>Distributeur</b> <i>(Opmerking: De/het toepasselijke land/regio kan zijn aangegeven onder het symbool)</i>	 <b>Site</b> Locatie
 <b>Assigned Range [IU/mL]</b> Toegewezen bereik (IU/ml)	 Niet opnieuw gebruiken	 <b>Procedure Standard</b> Standaardprocedure
 <b>EC REP</b> Geautoriseerde vertegenwoordiger in de Europese Gemeenschap	 Vrouw	 <b>STERILE EO</b> Gesteriliseerd met ethyleenoxide
 <b>BARCODE</b> Informatieblad streepjescode	 Uitsluitend voor evaluatie van IVD-prestaties	 Opslaan op een donkere plaats
 <b>LOT</b> Lotnummer	 <b>GTIN</b> Global Trade Item Number	 Temperatuurlimiet
 Biologische risico's	 Importeur	 <b>TDF</b> Bestand voor testdefinitie
 <b>REF</b> Catalogusnummer	 <b>IVD</b> Medisch hulpmiddel voor <i>in-vitro</i> -diagnostiek	 Deze zijde omhoog
 CE-markering van overeenstemming; dit apparaat voldoet aan de toepasselijke eisen voor CE-markering van een <i>in vitro</i> medisch hulpmiddel voor diagnose	 <b>LLR</b> Ondergrens van toegewezen bereik	 <b>Procedure UltraSensitive</b> Ultragevoelige procedure
 <b>Collect Date</b> Afnamedatum	 Man	 <b>UDI</b> Unieke apparaatidentificatie
 Raadpleeg de gebruiksaanwijzing	 Fabrikant	 <b>ULR</b> Bovengrens van toegewezen bereik
 Voldoende voor <n> test	 <b>CONTROL -</b> Negatieve controle	 <b>Urine Fill Line</b> Urine vullijn
 <b>CONTENT</b> Inhoud van kit	 Niet-steriel	 <b>Rx Only</b> Alleen voor de VS: Krachtens de Amerikaanse federale wetgeving mag dit hulpmiddel uitsluitend door of op voorschrift van een arts worden verkocht.
 <b>CONTROL</b> Controle	 Naam patiënt	 Houdbaar tot
 Productiedatum	 Patiëntnummer	
 Apparaat voor Near Patient Testing	 Hier losmaken	
 Apparaat voor zelftesten	 <b>CONTROL +</b> Positieve controle	
	 <b>QS copies / PCR</b> QS-kopieën per PCR-reactie, gebruik de QS-kopieën per PCR-reactie bij berekening van de resultaten.	

## Technische ondersteuning

Neem voor technische ondersteuning (assistentie) contact op met uw lokale partner:  
[https://www.roche.com/about/business/roche\\_worldwide.htm](https://www.roche.com/about/business/roche_worldwide.htm)

## Fabrikant, importeur en distributeur

**Tabel 18 Fabrikant, importeur en distributeur**



Roche Molecular Systems  
 1080 US Highway 202 South  
 Branchburg, NJ 08876 USA  
[www.roche.com](http://www.roche.com)



EC Importer<sup>1</sup>

Roche Diagnostics GmbH  
 Sandhofer Strasse 116  
 68305 Mannheim, Germany

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)<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Symbooltekst alleen vereist door de VS.

<sup>2</sup> Alleen voor de VS.

## Handelsmerken en patenten

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

## Copyright

©2022 Roche Molecular Systems, Inc.



Roche Diagnostics GmbH  
 Sandhofer Str. 116  
 68305 Mannheim  
 Germany



## Referenties

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 GJ 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.

## Documentrevisie

Informatie over documentrevisie	
Doc Rev. 2.0 12/2022	<p>Bijgewerkt om aan de eisen van de IVDR te voldoen.</p> <p>Paragraaf <b>Voorzorgsmaatregelen en vereisten voor verwerking</b> bijgewerkt om de gebruiker te adviseren om contact op te nemen met de ter plaatse bevoegde autoriteit.</p> <p>Paragraaf <b>Integriteit</b> bijgewerkt om de gebruiker te adviseren om geen reagentia of bakjes te gebruiken die zichtbaar beschadigd zijn of tekenen van lekkage vertonen.</p> <p>Weblink toegevoegd naar de samenvatting van het veiligheids- en prestatierapport.</p> <p>Paragraaf <b>Technische ondersteuning</b> en adres van de importeur toegevoegd.</p> <p>Pagina met geharmoniseerde symbolen bijgewerkt.</p> <p>Adressen van distributeurs verwijderd.</p> <p>Neem contact op met uw plaatselijke Roche-vertegenwoordiger als u vragen hebt.</p>

De samenvatting van het veiligheids- en prestatierapport is te vinden via de volgende link:

<https://ec.europa.eu/tools/eudamed>