

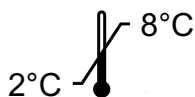
FMF StripAssay[®]

Инструкции за употреба

REF



4-230	20 теста
4-230-A	48 теста
4-230-TRIAL	5 теста



Версия: rev 1.0/български
eIFU и други езици са достъпни на адрес
www.viennalab.com

IVD

CE 0123



ViennaLab Diagnostics GmbH

Gaudenzdorfer Guertel 43-45, A-1120 Vienna, Austria

t: +43 1 8120156-0

e: info@viennalab.com

w: www.viennalab.com

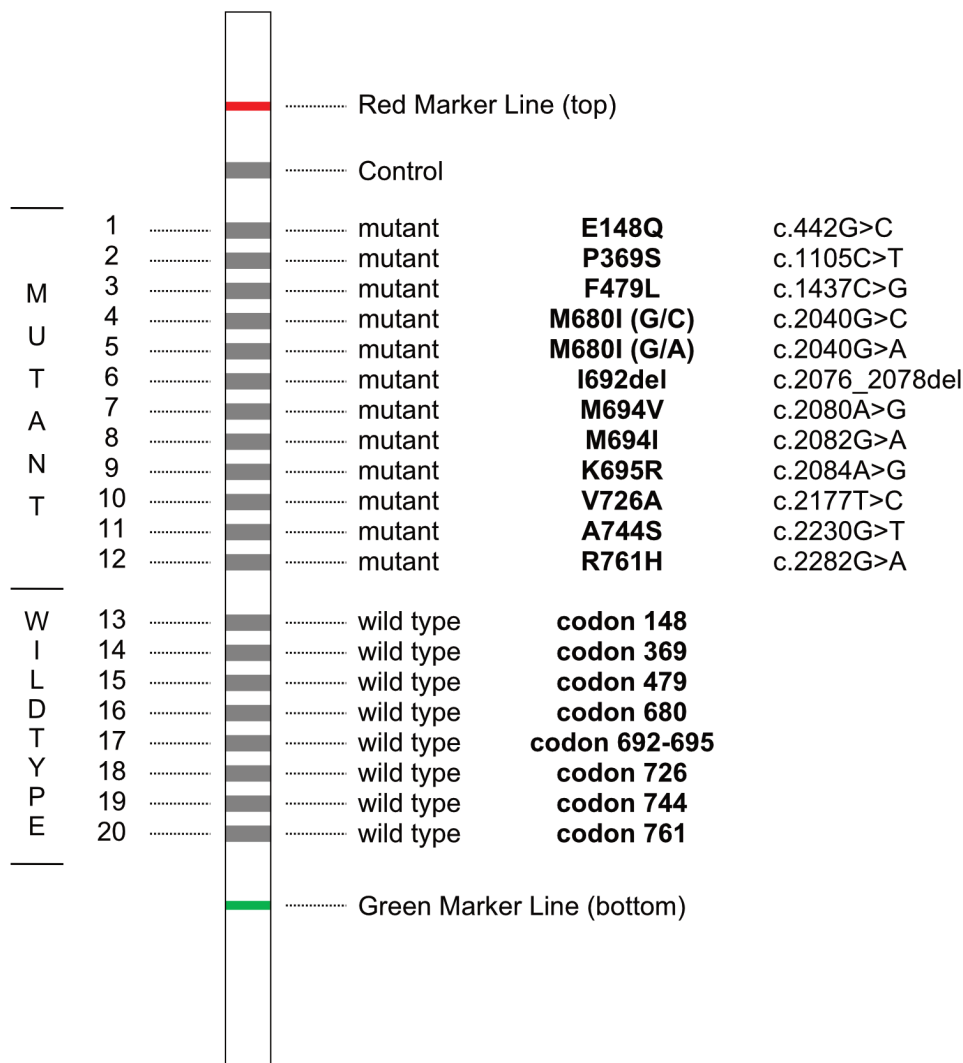
СЪДЪРЖАНИЕ

I.	ПРЕДНАЗНАЧЕНИЕ	4
II.	ВЪВЕДЕНИЕ	4
III.	МЕТОДОЛОГИЯ.....	4
IV.	КОМПОНЕНТИ НА КОМПЛЕКТА.....	6
V.	МАТЕРИАЛИ, КОИТО СЕ ИЗИСКВАТ, НО НЕ СЕ ДОСТАВЯТ.....	7
VI.	ПРОЦЕДУРА ЗА АНАЛИЗ	8
VII.	ТЪЛКУВАНЕ НА РЕЗУЛТАТИТЕ	12
VIII.	ОЦЕНКА НА ЕФЕКТИВНОСТТА.....	14
IX.	ИНТЕРФЕРИРАЩИ ВЕЩЕСТВА	14
X.	ОГРАНИЧЕНИЯ НА АНАЛИЗА	15
XI.	СЪОБРАЖЕНИЯ, СВЪРЗАНИ С КАЧЕСТВОТО.....	15
XII.	БЕЗОПАСНОСТ	15
XIII.	ТЕХНИЧЕСКА ПОДДРЪЖКА.....	16
XIV.	БИБЛИОГРАФИЯ.....	16
XV.	ОБРАТНА ВРЪЗКА КЪМ ПРОИЗВОДИТЕЛЯ.....	16
XVI.	СИМВОЛИ	17
XVII.	ПРИМЕРИ ЗА РЕЗУЛТАТИ ОТ ТЕСТА.....	18
XVIII.	СВЪРЗАНИ ПРОДУКТИ	20

ИСТОРИЯ НА ПРОМЕНИТЕ:

версия	дата	описание
ред. 1.0	ноември 2022 г.	Добавяне на съдържание, свързано с IVDR, във версия 2022-01.

Резюме относно безопасността и ефективността (SSP, Summary of Safety and Performance) на StripAssay® може да бъде изтеглено от Европейската база данни за медицински изделия (EUDAMED, European Database on Medical Devices): <https://ec.europa.eu/tools/eudamed> или от производителя.



EN	BG
mutant	мутант
wildtype	див тип
control	контрола
red marker line (top)	червена маркираща линия (отгоре)
green marker line (bottom)	зелена маркираща линия (отдолу)

Фиг. 1: Дизайн на Teststrip

Забележка: Teststrips не са представени в реален размер и не трябва да се използват за тълкуване на резултатите!

I. ПРЕДНАЗНАЧЕНИЕ

FMF StripAssay® е качествен генетичен тест за целеви анализ на 12 често срещани мутации в *MEFV* гена, свързан с фамилната средиземноморска треска (FMF, Familial Mediterranean Fever). За изследването се използва геномна ДНК, извлечена от проби от цяла периферна кръв. FMF StripAssay® е разработен като помощно средство за диагностициране на FMF при пациенти с клинични симптоми, съответстващи на FMF, или при рискови роднини на пациент с установена патогенна мутация на *MEFV*. StripAssay® може да се извършва ръчно или полуавтоматично.

За *инвитро* диагностична употреба при хора.

II. ВЪВЕДЕНИЕ

Фамилната средиземноморска треска е най-честото моногенно автоинфламаторно заболяване, което се характеризира с повтарящи се фебрилни епизоди, придружени от болка в корема (перитонит), гръдния кош (плеврит) или ставите (артрит) и еритема на кожата, подобна на еризипел. Известно е, че системната реактивна (AA) амилоидоза е основното дългосрочно усложнение с тежка проява и лоша прогноза. FMF има автозомно-рецесивен модел на унаследяване в повечето случаи и се наблюдава предимно при пациенти от средиземноморското или блискоизточното население. Описани са множество варианти на гена на средиземноморската треска (*MEFV*) като молекулярните дефекти, които причиняват FMF. Самият *MEFV* ген е локализиран в хромозома 16p13.3 и се състои от 10 екзона, които кодират 781-аминокиселинен протеин, известен като пирин. Клиничната картина на FMF може да бъде сложна, поради което генетичното изследване за мутации на *MEFV* е подходящ начин за потвърждаване на диагнозата.

III. МЕТОДОЛОГИЯ

FMF StripAssay® се основава на полимеразна верижна реакция (PCR, polymerase chain reaction) и обратна хибридизация. Процедурата включва три стъпки: (1) изолиране на ДНК, (2) PCR амплификация с помощта на биотинилирани праймери, (3) хибридизация на амплификационните продукти върху Teststrip, съдържаща алел-специфични олигонуклеотидни сонди, имобилизирани като масив от успоредни линии (Фиг. 1). Свързаните биотинилирани секвенции се откриват с помощта на стрептавидин-алкална фосфатаза и цветни субстрати.

FMF StripAssay® открива следните мутации в локуса на *MEFV* гена:

	предишно наименование	Номенклатура на HGVS		RefSNP
1	E148Q	c.442G>C	g.7002G>C	rs3743930
2	P369S	c.1105C>T	g.12042C>T	rs11466023
3	F479L	c.1437C>G	g.14462C>G	rs104895083
4	M680I (G/C)	c.2040G>C	g.18181G>C	rs28940580
5	M680I (G/A)	c.2040G>A	g.18181G>A	rs28940580
6	I692del	c.2076_2078del	g.18217_18219delAAT	rs104895093
7	M694V	c.2080A>G	g.18221A>G	rs61752717
8	M694I	c.2082G>A	g.18223G>A	rs28940578
9	K695R	c.2084A>G	g.18225A>G	rs104895094
10	V726A	c.2177T>C	g.18318T>C	rs28940579
11	A744S	c.2230G>T	g.18371G>T	rs61732874
12	R761H	c.2282G>A	g.18423G>A	rs104895097

Референтна секвенция (RefSeq, Reference Sequence):



NM_000243.2

NG_007871.1

Тестът може да се извърши ръчно или полуавтоматично с помощта на инструменти, предназначени за автоматизиране на обработката на Teststrip (вж. раздел VI. 3.4).

IV. КОМПОНЕНТИ НА КОМПЛЕКТА

REF

	4-230	4-230-A	4-230 -TRIAL
1. Lysis Solution	50 ml	---	50 ml
2. GENXTRACT™ Resin	5 ml	---	5 ml
3. Amplification Mix (жълта капачка)	500 µl	2 x 500 µl	500 µl
4. Taq Dilution Buffer (прозрачна капачка)	500 µl	500 µl	500 µl
5. Taq DNA Polymerase (5 U/µl) (червена капачка)	75 U	125 U	75 U
6. DNAT (синя капачка)	1,5 ml	1,5 ml	1,5 ml
<p> Предупреждение: DNAT съдържа 1,6% NaOH H315: Предизвиква дразнене на кожата H319: Предизвиква сериозно дразнене на очите P280: Използвайте предпазни ръкавици/предпазно облекло/предпазни очила/предпазна маска за лице P337 + P313: При продължително дразнене на очите: Потърсете медицински съвет/помощ</p>			
7. Typing Trays	3	---	1
8. Teststrips	20	2 x 24	5
9. Hybridization Buffer (бяла капачка)	25 ml	65 ml	25 ml
10. Wash Solution A (бяла капачка)	80 ml	200 ml	80 ml
11. Conjugate Solution (прозрачна капачка)	25 ml	65 ml	25 ml
12. Wash Solution B (прозрачна капачка)	80 ml	200 ml	80 ml
13. Color Developer (кафява капачка)	25 ml	65 ml	25 ml
<p> Предупреждение: Color Developer съдържа ≤0,4% малеинова киселина H317: Може да причини алергична кожна реакция P280: Използвайте предпазни ръкавици/предпазно облекло/предпазни очила/предпазна маска за лице P302 + P352: При контакт с кожата: измийте обилно с вода P333 + P313: При поява на кожно дразнене или обрив на кожата: Потърсете медицински съвет/помощ</p>			
14. Инструкции за употреба	1	1	1
15. Collector™ Sheet	1	3	1

Забележка: Съхранявайте всички реагенти при температура от 2°C до 8°C, когато не се използват!

наименование на компонента	състав
Lysis Solution	хипотоничен разтвор, съдържащ KHCO_3 , NH_4Cl , EDTA
GENXTRACT™ Resin	Chelex 100 Resin MB в буферизиран разтвор
Amplification Mix	специфични за секвенцията 5'-биотин маркирани олигонуклеотиди – еквимоларна смес от дезоксирибонуклеотидни трифосфати (dATP, dCTP, dGTP и dTTP), буфер на амониев сулфат, глицерол, 0,05% натриев азид
Taq Dilution Buffer	буфер за taq DNA polymerase, включително $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ и MgCl_2 , 0,05% натриев азид
Taq DNA Polymerase (5 U/µl)	taq DNA polymerase в концентрация от 5 U/µl

наименование на компонента	състав
DNAT	основен разтвор, съдържащ 1,6 % натриев хидроксид и синьо багрило, показващо промяна в рН
Typing Trays	пластмасова табла с осем ямки
Teststrips	алел-специфични олигонуклеотидни сонди и хибридизационна контрола, имобилизирани като масив от успоредни линии върху мембрана с полиестерна основа, оградена с червена линия отгоре и зелена линия отдолу
Hybridization Buffer	фосфатен буфер с <2% детергент
Wash Solution A	цитратен буфер с <1% детергент
Conjugate Solution	конюгирана със стрептавидин алкална фосфатаза, разреждана в буфер на основата на физиологичен разтвор с 0,05% натриев азид
Wash Solution B	трис буфер, съдържащ <2% детергент и 0,05% натриев азид
Color Developer	цветен субстрат за алкалната фосфатаза, съдържащ нитро син тетразолий (NBT, nitro blue tetrazolium) и 5-бромо-4-хлоро-3-индолил фосфат (BCIP, 5-bromo-4-chloro-3-indolyl phosphate)
Инструкции за употреба	хартиено копие
Collector™ Sheet	хартиено копие

V. МАТЕРИАЛИ, КОИТО СЕ ИЗИСКВАТ, НО НЕ СЕ ДОСТАВЯТ

В допълнение към стандартното лабораторно оборудване за молекулярна биология е необходимо следното:

- Термоблок или термомиксер за реакционни епруветки от 1,5 ml с температурен контрол до 99°C
- Регулируема микроцентрифуга с възможност за 3000 – 12 000 rpm (1000 – 12 000 x g)
- Термоциклер с нагряващ се капак (за спецификация на скоростта на нарастване вижте раздел VIII)
- Водна баня с платформа за разклащане, капак и регулируема температура (45°C ± 1°C)
- Шейкър (люлеещ се или орбитален)

Незадължително:

- Апарат за вакуумна аспирация
- Термошейкър за микротитърни плаки с капак и регулируема температура (45°C ± 1°C), напр. PST-60 HL (Biosan) или еквивалентно изделие
- Инструмент за автоматична хибридизация, регулируем според профила време-температура, както е описано в раздел VI. 3.4, напр. DYNABLOT Heat (Dyplex) или еквивалентно изделие
- Оборудване за електрофореза с агарозен гел (за контрол на амплификационните продукти)

VI. ПРОЦЕДУРА ЗА АНАЛИЗ

1. Подготовка на пробата

Проба: Използвайте прясна или замразена кръв с антикоагулант етилендиаминтетраоцетна киселина (EDTA). Кръв, съдържаща хепарин или цитрат, не е тествана. Не съхранявайте кръвта за повече от 3 дни при стайна температура или за повече от 1 седмица при температура от 2°C до 8°C преди употреба. Кръв, която е била съхранявана в замразено състояние повече от една година или е преминала през повече от три цикъла на замразяване и размразяване, не трябва да се използва. За вземане и транспортиране на пробите следвайте инструкциите за употреба на епруветката за вземане на кръв с EDTA и общите препоръки за вземане на кръвни проби.

Екстракция на ДНК: Приведете кръвните проби до стайна температура. Смесете добре, като внимателно обърнете няколко пъти епруветките за вземане на кръв. Оставете Lysis Solution и GENXTRACT™ Resin да достигнат стайна температура.

- Пипетирайте **100 µl** кръвна проба в 1,5 ml микроепруветка с капачка на винт.
- Добавете **1 ml Lysis Solution**, затворете епруветката и смесете, като обърнете няколко пъти.
- Оставете на стайна температура за **15 минути**.
- Центрофугирайте за **5 минути** при **3000 rpm** (прибл. 1000 x g) в микроцентрифуга.
- Отстранете и изхвърлете горния (най-горния) 1 ml от супернатанта.
- Добавете **1 ml Lysis Solution**, затворете епруветката и смесете, като обърнете няколко пъти.
- Центрофугирайте за **5 минути** при **12000 rpm** (прибл. 12000 x g) в микроцентрифуга.
- Отстранете и изхвърлете супернатанта, с изключение на около 50 µl видима, мека пелета.
- Ресуспендирайте GENXTRACT™ Resin чрез старателно развъртане на бутилката.
- Добавете **200 µl GENXTRACT™ Resin** към пелетата. Затворете епруветката и вортексирайте за 10 секунди.

Забележка: GENXTRACT™ Resin се седиментира бързо. Повтаряйте ресуспендирането всеки път непосредствено преди отстраняването на друга аликвотна част.

- Инкубирайте за **20 минути** при **56°C**. Вортексирайте за 10 секунди.
- Инкубирайте за **10 минути** при **98°C**. Вортексирайте за 10 секунди.
- Центрофугирайте за **5 минути** при **12 000 rpm** в микроцентрифуга. Охладете върху лед.

Полученият супернатант съдържа ДНК шаблон, подходящ за незабавна употреба в PCR. При по-нататъшно съхранение супернатантът трябва да се прехвърли в нова епруветка и да се съхранява в хладилник (от 2°C до 8°C; до една седмица) или във фризер при от -30°C до -15°C (за дълъг период от време).

Употребата на други методи за изолиране на ДНК с FMF StripAssay® не е валидирана. В случай че се използват други системи за екстракция на ДНК, концентрацията и чистотата на ДНК трябва да бъдат съответно в диапазона от 2 до 10 ng/µl и съотношение на OD_{A260/280} от 1,7 до 2,0. По-високите концентрации на ДНК трябва да се разреждат до препоръчителния диапазон преди използване в PCR.

2. In Vitro амплификация (PCR)

Важно: Съхранявайте всички PCR реагенти и ДНК шаблони в хладилник през цялото време.

- Всеки път пригответе пряко подходящо количество работен разтвор (1:25, крайна концентр. 0,2 U/µl) на **Taq DNA Polymerase** (5 U/µl, червена капачка) в **Taq Dilution Buffer** (прозрачна капачка) за броя проби, които ще се анализират, плюс **контролата без шаблон** (NTC, no-template control).

компонент	на реакция	напр. 10 реакции
Taq DNA Polymerase (5 U/µl)	0,2 µl	2 µl
Taq Dilution Buffer	4,8 µl	48 µl
работен разтвор	5 µl	50 µl

- Подгответе една реакционна епруветка за всяка проба, която ще се амплифицира. Поставете епруветките върху лед.
- За всяка проба пригответе крайна реакционна смес за PCR върху лед:
 - 15 µl Amplification Mix** (жълта капачка)
 - 5 µl разредена Taq DNA Polymerase** (1U)
 - 5 µl ДНК шаблон**

Забележка: Препоръчва се за всички проби да се приготви основна смес, съдържаща Amplification Mix и разредена Taq DNA Polymerase. Първо пипетирайте 20 µl от основната смес във всяка епруветка за PCR и след това добавете ДНК шаблон. Включете контрола без шаблон при всяко изпълнение, като използвате вода за PCR вместо ДНК (или за предпочитане отрицателната контрола на вашата екстракция на ДНК).

Като цяло пригответе работни разтвори/основна смес с 10% излишен обем, за да компенсирате неточностите при пипетиране.

- Затворете плътно епруветките. Предварително загрейте термоциклера до 94°C.
- Поставете реакционните епруветки и изпълнете следната програма за термоциклиране:
 - преди PCR: 94°C/2 минути**
 - термоциклиране: 94°C/15 секунди – 58°C/30 секунди – 72°C/30 секунди (35 цикъла)**
 - крайно удължаване: 72°C/3 минути**
- Съхранявайте амплификационните продукти върху лед или при температура от 2°C до 8°C за по-нататъшна употреба.

Незадължително: Анализирайте амплификационните продукти чрез гел-електрофореза (напр. 3% агарозен гел).

Дължини на фрагментите: 206, 236, 295, 318 bp

3. Обработка на Teststrips

3.1. Хибридизация (ръчна) – 1 Teststrip на проба (45°C, водна баня с разклащане)

Важно: Регулирайте нивото на водата във водната баня до приблизително ½ от височината на Typing Tray. Загрейте водната баня до точно 45°C. Проверете температурата на водата с калибриран термометър. Загрейте предварително Hybridization Buffer и Wash Solution A до 45°C. Погрижете се всички утайки, образувани при 2°C до 8°C, да се разтворят напълно. Оставете Teststrips, DNAT, Conjugate Solution, Wash Solution B и Color Developer да достигнат стайна температура. Подгответе необходимия брой Typing Tray.

Извадете по една Teststrip за всяка проба с помощта на чиста пинсета. Докосвайте Teststrips само с ръкавици без талк! Етикетирайте Teststrips извън маркиращите линии с молив (без химикалки, маркери и др.).

- Пипетирайте **10 µl DNAT** (синя капачка) в долния ъгъл на всяка ивица, която ще се използва в Typing Trays (една ивица на проба).
- Добавете **10 µl amplification product** в съответната капка DNAT.
- Смесете старателно с пипета. (Разтворът ще остане син.)
- Оставете на стайна температура за **5 минути**.
- Добавете **1 ml Hybridization Buffer** (предварително загрят до 45°C) във всяка ивица. Внимателно раздвижвайте таблата. (Синият цвят ще изчезне.)
- Поставете **Teststrip** с маркираната страна нагоре (при видими линии!) в съответните ивици. Потопете напълно.
- Инкубирайте за **30 минути** при **45°C** върху платформата за разклащане на водната баня.

Задайте умерена честота на разклащане (приблизително 50 rpm), за да избегнете разливане. Дръжте капака на водната баня затворен, за да избегнете промени в температурата.

- В края на инкубацията отстранете хибридизационните разтвори чрез вакуумна аспирация или пипетиране.

Пристъпете към действие незабавно. Не оставяйте Teststrips да изсъхнат по време на цялата процедура.

3.2. Стриктно промиване (45°C, водна баня с разклащане)

- Добавете **1 ml Wash Solution A** (предварително загрят до 45°C). Изплакнете за кратко (10 секунди).
Отстранете течностите чрез вакуумна аспирация или пипетиране.
- Добавете **1 ml Wash Solution A** (45°C).
- Инкубирайте за **15 минути** при **45°C** във водна баня с разклащане.
Отстранете течностите чрез вакуумна аспирация или пипетиране.
- Добавете **1 ml Wash Solution A** (45°C).
- Инкубирайте за **15 минути** при **45°C** във водна баня с разклащане.
Отстранете течностите чрез вакуумна аспирация или пипетиране.

3.3. Колориметрично откриване (стайна температура, 22°C ± 3°C)

- Добавете **1 ml Conjugate Solution**.
- Инкубирайте за **15 минути** на **стайна температура** в люлеещ се или орбитален шейкър.
Отстранете течностите чрез вакуумна аспирация или пипетиране.
- Добавете **1 ml Wash Solution B**. Изплакнете за кратко (10 секунди).
Отстранете течностите чрез вакуумна аспирация или пипетиране.
- Добавете **1 ml Wash Solution B**.
- Инкубирайте за **5 минути** на **стайна температура** в люлеещ се или орбитален шейкър.
Отстранете течностите чрез вакуумна аспирация или пипетиране.
- Добавете **1 ml Wash Solution B**.
- Инкубирайте за **5 минути** на **стайна температура** в люлеещ се или орбитален шейкър.
Отстранете течностите чрез вакуумна аспирация или пипетиране.
- Добавете **1 ml Color Developer**.
- Инкубирайте за **15 минути** на **стайна температура** на тъмно в люлеещ се или орбитален шейкър.
При положителна реакция ще се появи лилаво оцветяване.
- Промийте Teststrips няколко пъти с дестилирана вода.
Оставете лентите да изсъхнат на тъмно върху абсорбираща хартия.

Не излагайте Teststrips на силна светлина след Color Development.

3.4. Хибридизация (автоматична) – незадължително вместо водна баня и шейкър

Инструментът за автоматична обработка на Teststrips трябва да отговаря на следните изисквания:

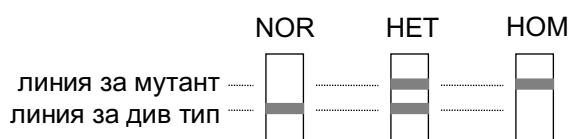
- Програмируем температурен и времеви профил в съответствие с раздел 3.1 до 3.3 от процедурата StripAssay®.
- Интегрирана станция за предварително загряване на Hybridization Buffer и Wash Solution A.
- Контрол на температурата на таблите по време на стъпките на хибридизация и стриктно промиване при 45°C ± 1°C.
- Активна система за охлаждане на таблата, която осигурява бързо понижаване на температурата за етапите на колориметрично откриване при стайна температура.
- Възможност за разклащане на таблата.
- Нагриващ се капак за таблата с цел избягване на изпаряването на реагентите по време на инкубацията.
- Разпределяне на определени обеми реагенти.
- Аспирация на реагентите.
- В зависимост от използвания инструмент и броя на пробите, обработвани в рамките на едно изпълнение, може да са необходими допълнителни реагенти. Отделни StripAssay® Detection Reagents са налични за 20 теста (REF CS-012) и 48 теста (REF CS-017).

VII. ТЪЛКУВАНЕ НА РЕЗУЛТАТИТЕ

Генотипът на дадена проба се определя с помощта на приложения Collector™ Sheet. Поставете обработената Teststrip в едно от определените полета, подравнете я с чертежа на схемата, като използвате червената маркираща линия (отгоре) и зелената маркираща линия (отдолу), и ги фиксирайте с помощта на залепваща се лента.

Положителната реакция на най-горната контролна линия показва правилното функциониране на Conjugate Solution и Color Developer. Тази линия винаги трябва да е положителна.

За всяка полиморфна позиция трябва да бъде получен един от следните модели на оцветяване (Фиг. 2):



Фиг. 2: Генотипове – модели на оцветяване на Teststrip

	линия за див тип	линия за мутант	генотип
NOR	положителна	отрицателна	нормален
HET	положителна	положителна	хетерозиготен
HOM	отрицателна	положителна	хомозиготен мутант

Забележка: Интензитетът на оцветяване на положителните линии може да варира. Това е без значение за резултата.

Вижте примери за резултати от StripAssay® на страница 18 (Фиг. 3).

Някои от мутациите, включени в FMF StripAssay® са разположени в няколко нуклеотида в *MEFV* гена. Върху Teststrips те са представени с обща сонда от див тип, така че 12-те мутации да бъдат покрити само от 8 сонди от див тип:

линия	сонда от див тип	мутация
13	кодон 148	E148Q
14	кодон 369	P369S
15	кодон 479	F479L
16	кодон 680	M680I (G/C), M680I (G/A)
17	кодон 692 – 695	I692del, M694V, M694I, K695R
18	кодон 726	V726A
19	кодон 744	A744S
20	кодон 761	R761H

Проби, които са комбинирани хетерозиготи за две от тези мутации (напр. M694V + M694I или M694V + K695R), няма да имат общ сигнал за див тип (вижте примери I и G, страница 18).

Както при всеки диагностичен тест, резултатите от FMF StripAssay® трябва да се тълкуват в контекста на цялостния клиничен фенотип на пациента и другите медицински изследвания, с които разполага лекарят. ViennaLab Diagnostics GmbH не носи отговорност за взетите клинични решения.

VIII. ОЦЕНКА НА ЕФЕКТИВНОСТТА

Точността на FMF StripAssay® е определена чрез анализ на 173 предварително типизирани проби от геномна ДНК. Резултатите напълно съвпадат с референтния метод (секвениране по Sanger, денатурираща градиентна гел електрофореза (DGGE, denaturing gradient gel electrophoresis) и полиморфизъм на дължината на рестрикционния фрагмент (RFLP, restriction fragment length polymorphism). Анализът открива правилно 251 мутантни алела (= 100% положително процентно съответствие) и 103 алела от див тип (= 100% отрицателно процентно съответствие).

Прецизността на FMF StripAssay® е оценена като вариабилност между повторенията, операторите, дните, партидите реагенти, термоциклерите и устройствата за хибридизация (ръчна и полуавтоматична хибридизация). При общо 106 повторения на тестовете, проведени при изследваните параметри, всички тестове показаха очакваните резултати от генотипизирането. Видими са само незначителни разлики в интензивността на оцветяване на Teststrips и не се наблюдава фоново оцветяване. FMF StripAssay® е валидиран на AB GeneAmp® PCR System 2700, AB GeneAmp® PCR System 9700, AB Veriti и MJ Research PTC-200, които представляват скорост на нагряване и охлаждане в диапазона, съответно от 1,7 до 4,2°C/sec и от 1,4 до 3,7°C/sec.

Употребата на други термоциклери трябва да се провери от потребителя.

Аналитичната специфичност се осигурява преди всичко чрез подбора на ген-специфичните праймери и алел-специфичните сонди за улавяне, както и чрез подбора на строги условия за реакция. Праймерите и сондите са проверени за възможни хомологии с всички секвенции, публикувани в генните бази данни, чрез анализ за сравнение на секвенциите. По този начин е осигурена откриваемост на всички съответни генотипове. Потенциалната кръстосана реактивност между сондите за улавяне е проверена чрез синтетична ДНК, съдържаща съответния генен фрагмент. Не е наблюдавана кръстосана реактивност.

Клинична ефективност: Оценката на клиничната ефективност на FMF StripAssays® в подкрепа на клиничните доказателства включва систематичен преглед на наличните данни и приложими елементи. В резултат на литературното търсене са идентифицирани 22 публикации, отнасящи се до безопасността и ефективността на FMF StripAssays®, които доказват клиничната полза от FMF StripAssay®. В рамките на проучванията за сравнение на методите не са установени нежелани събития или отклонения. В обобщение, клиничната ефективност, ползите и безопасността на FMF StripAssay® се потвърждават, когато устройството се използва по предназначение за диагностициране на фамилна средиземноморска треска.

IX. ИНТЕРФЕРИРАЩИ ВЕЩЕСТВА

Тествани са пет интерфериращи вещества (хемоглобин, имуноглобулин G, следи от кръв, етанол и EDTA), които потенциално могат да присъстват в ДНК препарати, получени от кръв с EDTA. Ефектите им върху PCR са оценени в три пречистени ДНК проби с добавени различни концентрации на веществата и сравнени с контролите им без добавяне на интерфериращи вещества. Всички проби са анализирани в три повторения.

Крайна концентрация от <10 µM хемоглобин, 0,1 µM имуноглобулин G, <1% периферна кръв, 1,25% етанол или 0,1 mM EDTA в реакцията не пречи на ефективността на StripAssay®.

X. ОГРАНИЧЕНИЯ НА АНАЛИЗА

FMF StripAssay® е предназначен изключително за откриването на 12 известни мутации, изброени в раздел III, които са представени чрез алел-специфични сонди за улавяне върху Teststrips. Други мутации на *MEFV*, които може да присъстват в пробата на пациента, не могат да бъдат открити.

Редки или частни варианти в местата за свързване на праймерите и сондите могат да доведат до неуспешно амплифициране и липса на сигнали върху Teststrips.

ДНК пробите, получени чрез методи, различни от реагентите и протокола, предоставени с FMF StripAssay®, могат в някои случаи да покажат слаби или липсващи сигнали за див тип и мутанта E148Q. Ефектът се дължи на влошаване на ефективността на PCR за този конкретен фрагмент и е наблюдаван при няколко популярни комплекта за екстракция на ДНК. Предварителното загряване на такива ДНК проби до 98°C за 10 минути, незабавно последвано от охлаждане върху лед или в охлаждащ блок, преди да се подготви PCR, може напълно да възстанови нормалните резултати от PCR.

FMF StripAssay® е предназначен само за професионална употреба в лаборатория.

XI. СЪОБРАЖЕНИЯ, СВЪРЗАНИ С КАЧЕСТВОТО

- За получаване на надеждни резултати е необходимо задълбочено разбиране на описаната тук процедура, както и стандартни лабораторни техники и подходящо оборудване.
- Не използвайте комплектите StripAssay® след изтичането на срока им на годност.
- След първоначалното отваряне на първичния контейнер реагентите StripAssay® са стабилни до датата на изтичане на срока на годност, отпечатана върху външния етикет на комплекта, когато се съхраняват правилно при температура от 2°C до 8°C.
- Използвайте стерилни крайници за пипети за еднократна употреба с филтри, за да избегнете микробно замърсяване и кръстосано замърсяване на реагентите или пробите. Не разменяйте капачките на бутилките.
- Само за еднократна употреба.

XII. БЕЗОПАСНОСТ

- Не пийте, не яжте, не пушете и не използвайте козметика в определените работни зони. Носете лабораторни престилки и ръкавици за еднократна употреба, когато работите с проби и реагенти от комплекта. След това измивайте добре ръцете си.
- Работете с пробите така, сякаш са носители на заразни агенти. Старателно почиствайте и дезинфекцирайте всички материали и повърхности, които са били в контакт с проби. Изхвърляйте всички отпадъци, свързани с клинични проби, в контейнер за биологично опасни отпадъци.
- Избягвайте контакт на DNAT и Color Developer с кожата, очите или лигавиците. При контакт незабавно промийте с голямо количество вода. При разливане разрежете с вода, преди да избършете до сухо.
- Спазвайте всички приложими местни и федерални разпоредби за безопасност и опазване на околната среда.

XIII. ТЕХНИЧЕСКА ПОДДРЪЖКА

Техническа поддръжка можете да получите чрез:

- местния дистрибутор на ViennaLab Diagnostics (www.viennalab.com/distribution);
- учебни видеоклипове (www.viennalab.com/support);
- ръководството на StripAssay® (www.viennalab.com/support);
- StripAssay® Troubleshooting Guide (Ръководство за отстраняване на неизправности) (www.viennalab.com/support)
- връзка с techhelp@viennalab.com.












XIV. БИБЛИОГРАФИЯ

- OMIM Online Mendelian Inheritance in Man (www.omim.org)
- Infevers database (<https://infevers.umai-montpellier.fr/web>)
- ISSAID (www.issaid.org)

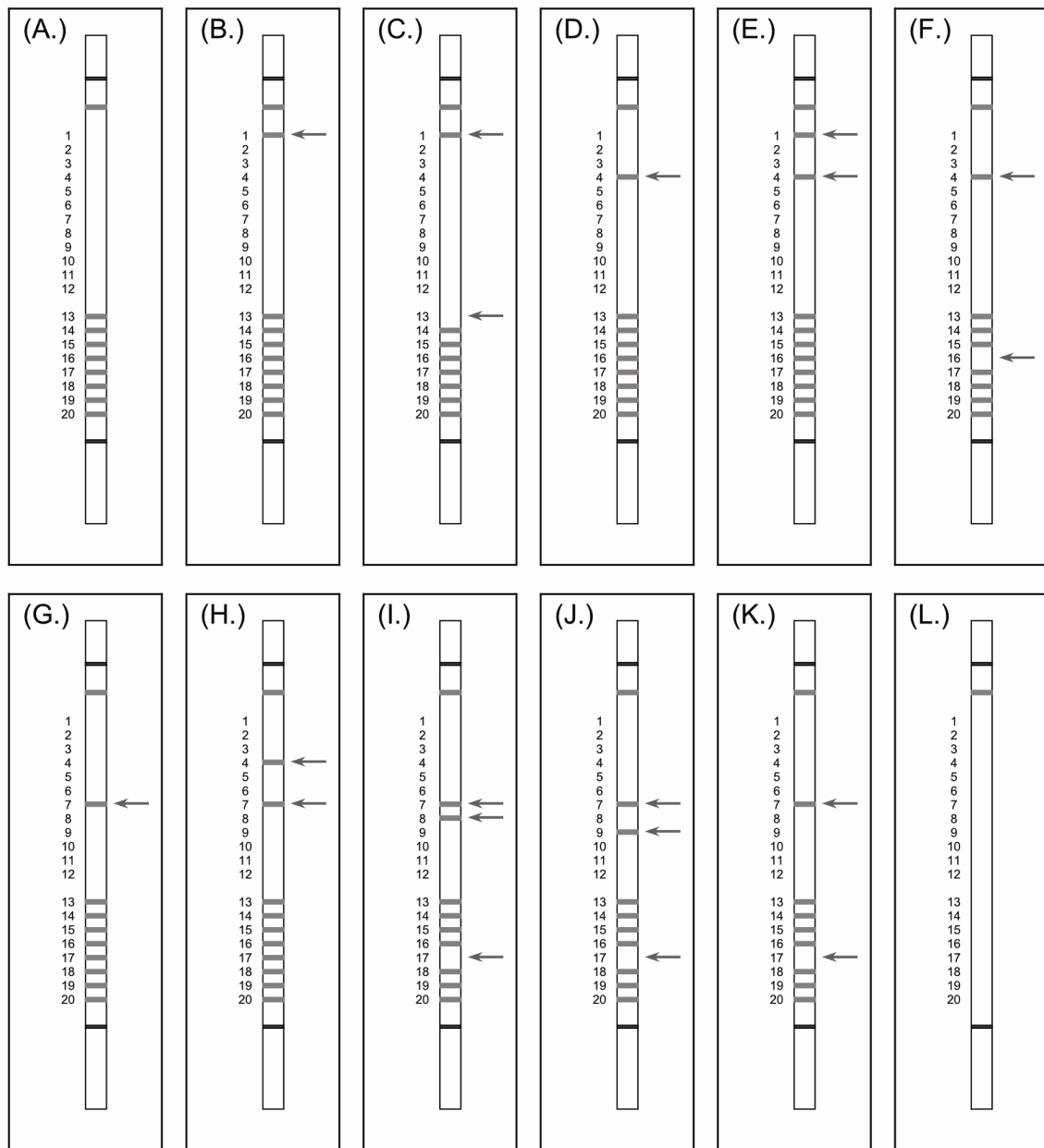
XV. ОБРАТНА ВРЪЗКА КЪМ ПРОИЗВОДИТЕЛЯ

Всеки сериозен инцидент, възникнал във връзка със StripAssay®, трябва да се докладва на компетентния орган в страната и на производителя.

XVI. СИМВОЛИ

	Каталожен номер
	Код на партида
	Медицинско изделие за <i>инвитро</i> диагностика
	В съответствие с Регламент 2017/746 на Европейския парламент за медицинските изделия за инвитро диагностика (IVD) Идентификационен номер на нотифицирания орган
	Достатъчно за <n> теста
	Граници на температурата на съхранение
	Годно до
	Внимание
	Производител
	Дата на производство
	Вижте инструкциите за употреба

XVII. ПРИМЕРИ ЗА РЕЗУЛТАТИ ОТ ТЕСТА




Фиг. 3: Примери за резултати, получени с FMF StripAssay®

- | | |
|--|---|
| (A.) нормален | (G.) M694V хетерозиготен |
| (B.) E148Q хетерозиготен | (H.) M680I (G/C) – M694V хетерозиготен |
| (C.) E148Q хомозиготен | (I.) M694V – M694I хетерозиготен |
| (D.) M680I (G/C) хетерозиготен | (J.) M694V – K695R хетерозиготен |
| (E.) E148Q – M680I (G/C) хетерозиготен | (K.) M694V хомозиготен |
| (F.) M680I (G/C) хомозиготен | (L.) негативна контрола или неуспешен PCR |

ЗАБЕЛЕЖКИ:

XVIII. СВЪРЗАНИ ПРОДУКТИ

REF		
4-230	FMF StripAssay®	20 теста
4-390	FMF-SAA1 StripAssay®	20 теста
CS-012	StripAssay® Detection Reagents	20 теста
CS-017	StripAssay® Detection Reagents 48	48 теста
2-014	GENXTRACT™ Blood DNA Extraction System	100 екстракции
2-020	Spin Micro DNA Extraction Kit	20 екстракции
6-080	Typing Trays	5

Дистрибутор:



Производител:



ViennaLab Diagnostics GmbH

Gaudenzdorfer Guertel 43-45, A-1120 Vienna, Austria

t: +43 1 8120156-0

e: info@viennalab.com

w: www.viennalab.com