

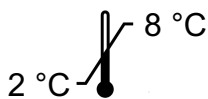
# FMF StripAssay<sup>®</sup>

Návod k použití

**REF**



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



Verze: rev 1.0 / česky  
Elektronický návod k použití a další  
jazyky jsou k dispozici na adrese  
[www.viennalab.com](http://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](mailto:info@viennalab.com)

w: [www.viennalab.com](http://www.viennalab.com)

**OBSAH**

I.	ÚČEL POUŽITÍ.....	4
II.	ZÁKLADNÍ INFORMACE .....	4
III.	METODIKA.....	4
IV.	SOUČÁSTI SOUPRAVY .....	6
V.	POTŘEBNÝ MATERIÁL, KTERÝ NENÍ SOUČÁSTÍ DODÁVKY .....	7
VI.	POUŽITÍ .....	8
VII.	INTERPRETACE VÝSLEDKŮ .....	12
VIII.	HODNOCENÍ VÝKONNOSTI.....	14
IX.	INTERFERUJÍCÍ LÁTKY .....	14
X.	OMEZENÍ TESTU .....	15
XI.	HLEDISKA KVALITY .....	15
XII.	BEZPEČNOST .....	15
XIII.	TECHNICKÁ PODPORA.....	16
XIV.	LITERATURA .....	16
XV.	ZPĚTNÁ VAZBA VÝROBCI .....	16
XVI.	SYMBOLY .....	17
XVII.	PŘÍKLADY VÝSLEDKŮ TESTU.....	18
XVIII.	SOUVISEJÍCÍ PRODUKTY .....	20

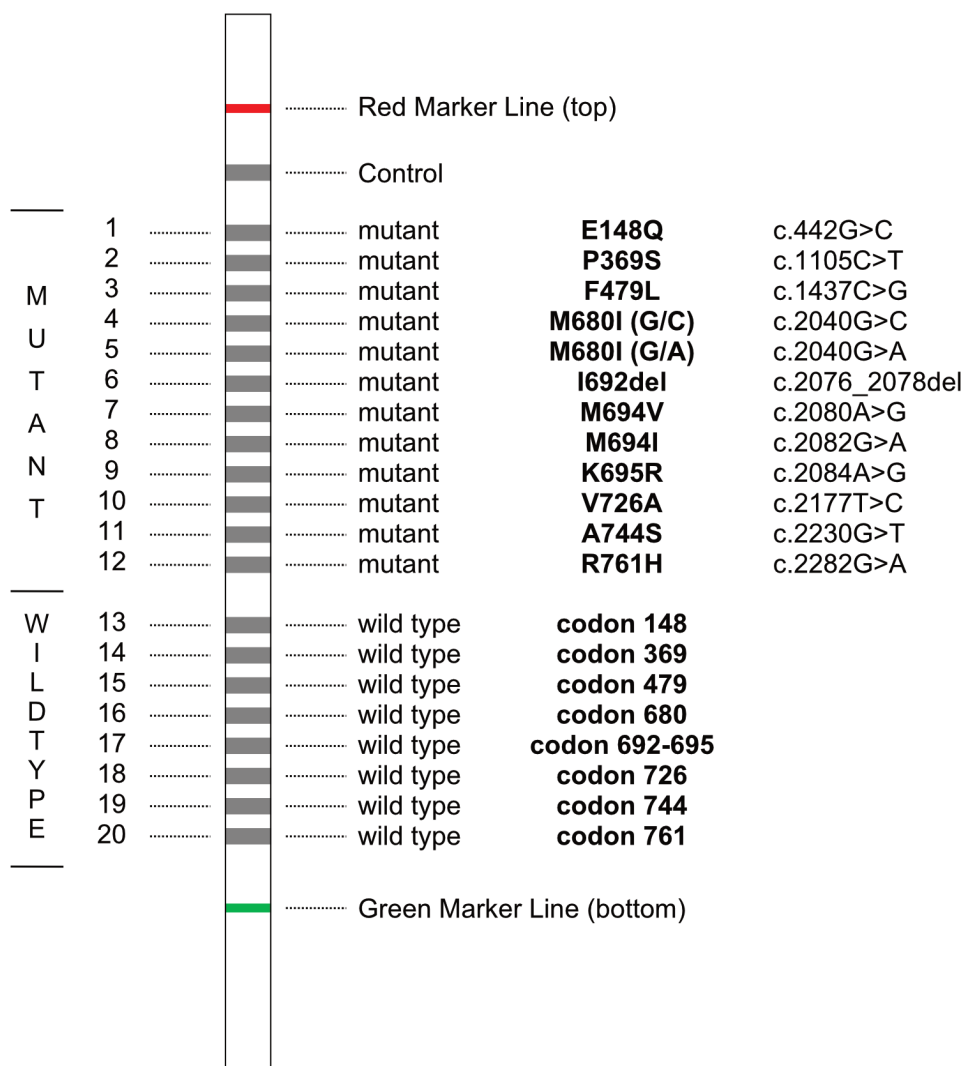
**HISTORIE REVIZÍ:**

<b>Verze</b>	<b>Datum</b>	<b>Popis</b>
rev. 1.0	2022-11	Dodatek k obsahu souvisejícímu s IVDR k verzi 2022-01.

---

---

Souhrn bezpečnosti a účinnosti (SSP, Summary of Safety and Performance) testu StripAssay® lze získat z Evropské databáze zdravotnických prostředků (EUDAMED): <https://ec.europa.eu/tools/eudamed> nebo od výrobce.



EN	CS
mutant	mutant
wildtype	divoký typ
control	kontrola
red marker line (top)	červená čára značky (nahore)
green marker line (bottom)	zelená čára značky (dole)

**Obr. 1: Schéma proužku Teststrip**

**Poznámka:** Proužky Teststrip nejsou nakreslené ve skutečné velikosti a nesmí se používat k interpretaci výsledků.

## I. ÚČEL POUŽITÍ

Test FMF StripAssay® je kvalitativní genetický test k cílené analýze 12 běžných mutací v genu *MEFV* spojených s familiární středomořskou horečkou (FMF, Familial Mediterranean Fever). K testování se používá genomová DNA extrahovaná z plné periferní krve. Test FMF StripAssay® je navržen tak, aby sloužil jako pomůcka k diagnostice FMF u pacientů se vzorcem klinických příznaků odpovídajícím FMF nebo u rizikových příbuzných pacienta s identifikovanou patogenní mutací *MEFV*. Test StripAssay® lze provádět buď ručně, nebo poloautomaticky.

K humánnímu diagnostickému použití *in vitro*.

## II. ZÁKLADNÍ INFORMACE

Familiární středomořská horečka je nejčastější monogenní autozánětlivé onemocnění, které je charakterizované recidivujícími horečnatými epizodami, doprovázenými bolestí břicha (peritonitida), hrudníku (pleuritida) nebo kloubů (artritida) a kožním erytémem podobným erysipelu. Je známo, že systémová reaktivní (AA) amyloidóza je hlavní dlouhodobou komplikací se závažným projevem a špatnou prognózou. FMF má ve většině případů autozomálně recesivní typ dědičnosti a je primárně pozorována u pacientů ze středomořské nebo středovýchodní populace. Jako molekulární defekty, které způsobují FMF, byly popsány četné varianty genu středomořské horečky (*MEFV*). Samotný gen *MEFV* je lokalizován na chromozomu 16p13.3 a obsahuje 10 exonů, které kódují protein o 781 aminokyselinách známý jako pyrin. Klinický obraz FMF může být složitý, takže genetické testování na mutace *MEFV* je vhodný způsob, jak diagnózu potvrdit.

## III. METODIKA

Test FMF StripAssay® je založen na polymerázové řetězové reakci (PCR, polymerase chain reaction) a reverzní hybridizaci. Postup zahrnuje tři kroky: (1) izolaci DNA, (2) amplifikaci PCR pomocí biotinylovaných primerů, (3) hybridizaci amplifikačních produktů s proužkem Teststrip obsahujícím alelově specifické oligonukleotidové sondy imobilizované jako pole paralelních linií (Obr. 1). Navázané biotinylované sekvence se detekují pomocí streptavidin-alkalické fosfatázy a barevných substrátů.

Test FMF StripAssay® detekuje následující mutace v genovém loku *MEFV*:

	Starší název	Nomenklatura 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

Referenční sekvence (RefSeq, Reference Sequence):



NM\_000243.2

NG\_007871.1

Test lze provádět ručně nebo poloautomaticky pomocí přístrojů určených k automatizaci zpracování proužků Teststrip (viz část VI. 3.4).

IV. SOUČÁSTI SOUPRAVY

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 (žluté víčko)	500 µl	2 x 500 µl	500 µl
4. Taq Dilution Buffer (průhledné víčko)	500 µl	500 µl	500 µl
5. Taq DNA Polymerase (5 U/µl) (červené víčko)	75 U	125 U	75 U
6. DNAT (modré víčko)	1,5 ml	1,5 ml	1,5 ml
<p> Varování: DNAT obsahuje 1,6% NaOH                      H315: Dráždí kůži                      H319: Způsobuje vážné podráždění očí                      P280: Používejte ochranné rukavice/ochranný oděv/ochranné brýle/obličejový štít                      P337 + P313: Přetrvává-li podráždění očí: Vyhleďte lékařskou pomoc/ošetření.</p>			
7. Typing Trays	3	---	1
8. Proužky Teststrip	20	2x 24	5
9. Hybridization Buffer (bílé víčko)	25 ml	65 ml	25 ml
10. Wash Solution A (bílé víčko)	80 ml	200 ml	80 ml
11. Conjugate Solution (průhledné víčko)	25 ml	65 ml	25 ml
12. Wash Solution B (průhledné víčko)	80 ml	200 ml	80 ml
13. Color Developer (hnědé víčko)	25 ml	65 ml	25 ml
<p> Varování: Color Developer obsahuje ≤ 0,4% kyselinu maleinovou                      H317: Může vyvolat alergickou kožní reakci                      P280: Používejte ochranné rukavice/ochranný oděv/ochranné brýle/obličejový štít                      P302 + P352: Při styku s kůží: Omyjte velkým množstvím vody                      P333 + P313: Při podráždění kůže nebo vyrážce: Vyhleďte lékařskou pomoc/ošetření</p>			
14. Návod k použití	1	1	1
15. Collector™ Sheet	1	3	1

**Poznámka:** Všechna činidla, která nepoužíváte, skladujte při teplotě 2 °C až 8 °C.

Název součásti	Složení
Lysis Solution	hypotonický roztok, který obsahuje KHCO <sub>3</sub> , NH <sub>4</sub> Cl, EDTA
GENXTRACT™ Resin	pryskyřice Chelex 100 MB v pufovacím roztoku
Amplification Mix	sekvenčně specifické 5'-biotinem značené oligonukleotidy, ekvimolární směs deoxyribonukleotidtrifosfátů (dATP, dCTP, dGTP a dTTP), pufr se síranem amonným, glycerol, 0,05% azid sodný
Taq Dilution Buffer	pufr pro polymerázu Taq DNA Polymerase, včetně (NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> a MgCl <sub>2</sub> , 0,05% azid sodný
Taq DNA Polymerase (5 U/µl)	Taq DNA polymerase v koncentraci 5 U/µl
DNAT	zásaditý roztok obsahující 1,6 % hydroxidu sodného a modré barvivo, které indikuje změnu pH
Typing Trays	plastový zásobník s osmi jamkami

Název součásti	Složení
Proužky Teststrip	alelově specifické oligonukleotidové sondy a hybridizační kontrola imobilizované jako řada paralelních linií na membráně podložené polyesterem, ohraničené červenou čarou nahoře a zelenou dole
Hybridization Buffer	fosfátový pufr s < 2 % detergentu
Wash Solution A	fosfátový pufr s < 1 % detergentu
Conjugate Solution	se streptavidinem konjugovaná alkalická fosfatáza zředěná puftrem na bázi solného roztoku s 0,05 % azidu sodného
Wash Solution B	tris pufr obsahující < 2 % detergentu a 0,05 % azidu sodného
Color Developer	barevný substrát pro alkalickou fosfatázu obsahuje nitrotetrazoliovou modř (NBT, nitro blue tetrazolium) a 5-brom-4-chlor-3-indolylfosfát (BCIP, 5-bromo-4-chloro-3-indolyl phosphate)
Návod k použití	tiskařský papír
Collector™ Sheet	tiskařský papír

## V. POTŘEBNÝ MATERIÁL, KTERÝ NENÍ SOUČÁSTÍ DODÁVKY

Kromě standardního laboratorního vybavení pro molekulární biologii je zapotřebí:

- termoblok nebo termomixér na 1,5ml reakční zkumavky s regulací teploty až do 99 °C,
- nastavitelná mikrocentrifuga s rychlostí až 3000–12 000 ot./min (1000–12 000 × g),
- termocykler s vyhřívaným víkem (rychlost růstu teploty viz část VIII),
- vodní lázeň s třepací plošinou, víkem a nastavitelnou teplotou (45 °C ± 1 °C),
- třepačka (houpací nebo orbitální třepačka).

### Volitelné:

- vakuový odsávací aparát,
- termotřepačka pro formát mikrotitrační destičky s víkem a nastavitelnou teplotou (45 °C ± 1 °C), např. PST-60 HL (Biosan) nebo podobné zařízení,
- přístroj pro automatickou hybridizaci, nastavitelný na profil času-teploty popsany v části VI. 3.4, např. DYNABLOT Heat (Dynex) nebo podobné zařízení,
- zařízení pro elektroforézu na agarózovém gelu (ke kontrole amplifikačních produktů).

## VI. POUŽITÍ

### 1. Příprava vzorků

**Vzorek:** Použijte čerstvou nebo zmrazenou krev s antikoagulantem EDTA. Krev obsahující heparin nebo citrát nebyla testována. Před použitím neuchovávejte krev déle než 3 dny při pokojové teplotě nebo déle než 1 týden při teplotě 2 °C až 8 °C. Krev, která byla uchovávána zmrazená déle než jeden rok nebo prošla více než třemi cykly zmrazení a rozmrazení, se použít nesmí. Při odběru a přepravě vzorků dodržujte návod k použití zkumavky pro odběr EDTA krve a obecná doporučení pro odběr krve.

**Extrakce DNA:** Vzorky krve nechte ustát na pokojovou teplotu. Zkumavky pro odběr krve několikrát opatrně převraťte, aby se obsah dobře promíchal. Vždy ponechte roztok Lysis Solution a GENXTRACT™ Resin dosáhnout pokojové teploty.

- Napipetujte **100 µl vzorku krve** do 1,5ml mikrozkušavky se šroubovacím víčkem.
- Přidejte **1 ml roztoku Lysis Solution**, zkumavku zavřete a několikrát převraťte, aby se obsah promíchal.
- Nechte ustát **15 min.** při pokojové teplotě.
- Odstřeďte **5 min.** při **3000 ot./min** (přibližně 1000 × g) v mikrocentrifuze.
- Odstraňte a zlikvidujte horní (vrchní) 1 ml supernatantu.
- Přidejte **1 ml roztoku Lysis Solution**, zkumavku zavřete a několikrát převraťte, aby se obsah promíchal.
- Odstřeďte **5 min.** při **12000 ot./min** (přibližně 12000 × g) v mikrocentrifuze.
- Odstraňte a zlikvidujte supernatant kromě přibližně 50 µl viditelného měkkého peletu.
- K resuspendování pryskyřice GENXTRACT™ Resin musíte lahvičkou důkladně zakroužit.
- K peletu přidejte **200 µl pryskyřice GENXTRACT™ Resin**. Zkumavku zavřete a 10 s míchejte v třepačce.

**Poznámka:** Pryskyřice GENXTRACT™ Resin sedimentuje rychle. Resuspendování opakujte pokaždé bezprostředně před odebráním dalšího alikvotu.

- Inkubujte **20 min.** při teplotě **56 °C**. Míchejte v třepačce po dobu 10 s.
- Inkubujte **10 min.** při teplotě **98 °C**. Míchejte v třepačce po dobu 10 s.
- Odstřeďte **5 min.** rychlostí **12 000 ot./min** v mikrocentrifuze. Ochladte na ledu.

Výsledný supernatant obsahuje templát DNA vhodný k okamžitému použití v PCR. K dalšímu uchovávání se musí supernatant přenést do nové zkumavky a skladovat v chladničce (2 °C až 8 °C; maximálně jeden týden) nebo zmrazený při teplotě -30 °C až -15 °C (dlouhodobě).

Použití jiných způsobů izolace DNA testem FMF StripAssay® nebylo validováno. V případě použití jiných systémů extrakce DNA musí být koncentrace a čistota DNA v rozmezí 2 až 10 ng/µl a poměr OD<sub>A260/280</sub> 1,7 až 2,0. Vyšší koncentrace DNA musí být před dodáním vzorku do PCR naředěny na doporučený rozsah.

## 2. Amplifikace in vitro (PCR)

**Důležité:** Všechna činidla PCR a templáty DNA uchovávejte v chladničce.

- Pokaždé připravte příslušné množství čerstvého pracovního roztoku (1 : 25, konečná konc. 0,2 U/μl) **Taq DNA Polymerase** (5 U/μl, červené víčko) v pufru **Taq Dilution Buffer** (průhledné víčko) pro daný počet analyzovaných vzorků a **kontrolu bez templátu** (NTC, no-template control).

Součást	Na reakci	Např. na 10 reakcí
Taq DNA Polymerase (5 U/μl)	0,2 μl	2 μl
Taq Dilution Buffer	4,8 μl	48 μl
pracovní roztok	5 μl	50 μl

- Připravte jednu reakční zkumavku pro každý vzorek, který má být amplifikován. Zkumavky umístěte na led.
- Pro každý vzorek připravte konečnou PCR reakční směs na ledu:
  - 15 μl Amplification Mix** (žluté víčko)
  - 5 μl naředěné polymerázy Taq DNA Polymerase** (1 U)
  - 5 μl templátu DNA**

**Poznámka:** Doporučujeme připravit mastermix pro všechny vzorky, které obsahují směs Amplification Mix a naředěnou polymerázu Taq DNA Polymerase. Nejprve napipetujte 20 μl mastermixu do každé zkumavky PCR a pak přidejte templát DNA. Do každého běhu analýzy zahrňte kontrolu bez templátu s použitím vody v kvalitě pro PCR místo DNA (nebo pokud možno negativní kontroly extrakce DNA).

Obvykle se pracovní roztoky / mastermix připravují s 10% přebytkem objemu, aby se kompenzovaly nepřesnosti při pipetování.

- Zkumavky pevně uzavřete. Předehřejte termocykler na teplotu 94°C.
- Vložte reakční zkumavky a spusťte následující program termocyklace:

**před PCR: 94°C / 2 min.**

**termocyklace: 94 °C / 15 s – 58 °C / 30 s – 72 °C /30 s (35 cyklů)**

**konečné prodloužení: 72°C / 3 min.**

- Amplifikační produkty uchovávejte k dalšímu použití na ledu nebo pro při teplotě 2 °C až 8 °C.

**Volitelné:** Analyzujte amplifikační produkty gelovou elektroforézou (např. 3% agarózový gel).

Délka fragmentů: 206, 236, 295, 318 párů bází

### 3. Zpracování proužků Teststrip

#### 3.1. Hybridizace (ruční) – 1 proužek Teststrip na vzorek (45 °C, vodní lázeň s třepáním)

**Důležité:** Nastavte hladinu vody ve vodní lázni přibližně na polovinu výšky zásobníku Typing Tray. Vodní lázeň zahřejte přesně na 45 °C. Teplotu vody zkontrolujte kalibrovaným teploměrem. Předehřejte pufr Hybridization Buffer a roztok Wash Solution A na teplotu 45 °C. Dávejte pozor, aby se všechny sraženiny vytvořené při teplotě 2 °C až 8 °C zcela rozpustily. Nechte proužky Teststrip, DNAT, roztok Conjugate Solution, Wash Solution B a Color Developer dosáhnout pokojové teploty. Připravte zásobníky Typing Trays.

Čistou pinzetou vyjměte na jeden vzorek jeden proužek Teststrip. Proužků Teststrip se dotýkejte pouze nepudrovanými rukavicemi! Tužkou (ne kuličkovým perem, fixem ani ničím jiným) označte proužky Teststrip mimo čáry značek.

- Napipetujte **10 µl DNAT** (modré víčko) do dolního rohu každého pruhu, který se má použít v zásobnících Typing Trays (jeden pruh na vzorek).
- Do příslušné kapky DNAT přidejte **10 µl amplifikačního produktu**.
- Důkladně zamíchejte pipetou. (Roztok zůstane modrý.)
- Nechte ustát **5 min.** při pokojové teplotě.
- Do každého pruhu přidejte **1 ml pufru Hybridization Buffer** (předehřátého na teplotu 45 °C).  
Zásobník jemně protřepejte. (Modrá barva zmizí.)
- Vložte proužky **Teststrip** vyznačenou stranou vzhůru (čáry jdou vidět!) do příslušného pruhu. Zcela ponořte.
- Inkubujte **30 min.** při teplotě **45 °C** na třepací plošině vodní lázně.

Nastavte mírnou frekvenci protřepávání (přibližně 50 ot./min), aby nedošlo k rozlití. Nechte kryt vodní lázně zavřený, aby nedocházelo ke změně teploty.

- Na konci inkubace hybridizační roztoky odstraňte vakuovou aspirací nebo pipetováním.

Ihned pokračujte. Během celého postupu dávejte pozor, aby proužky Teststrip nevyschly.

#### 3.2. Důkladné promytí (45 °C, vodní lázeň s třepáním)

- Přidejte **1 ml roztoku Wash Solution A** (předehřátého na teplotu 45 °C). Krátce opláchněte (10 s).  
Kapalinu odstraňte vakuovým odsáváním nebo pipetováním.
- Přidejte **1 ml roztoku Wash Solution A** (45 °C).
- Inkubujte **15 min.** při teplotě **45 °C** ve vodní lázni s třepáním.  
Kapalinu odstraňte vakuovým odsáváním nebo pipetováním.
- Přidejte **1 ml roztoku Wash Solution A** (45 °C).
- Inkubujte **15 min.** při teplotě **45 °C** ve vodní lázni s třepáním.  
Kapalinu odstraňte vakuovým odsáváním nebo pipetováním.

### 3.3. Kolorimetrická detekce (pokojová teplota, 22 °C ± 3 °C)

- Přidejte **1 ml roztoku Conjugate Solution**.
- Inkubujte **15 min.** při **pokojové teplotě** na houpací nebo orbitální třepačce. Kapalinu odstraňte vakuovým odsáváním nebo pipetováním.
- Přidejte **1 ml roztoku Wash Solution B**. Krátce opláchněte (10 s). Kapalinu odstraňte vakuovým odsáváním nebo pipetováním.
- Přidejte **1 ml roztoku Wash Solution B**.
- Inkubujte **5 min.** při **pokojové teplotě** na houpací nebo orbitální třepačce. Kapalinu odstraňte vakuovým odsáváním nebo pipetováním.
- Přidejte **1 ml roztoku Wash Solution B**.
- Inkubujte **5 min.** při **pokojové teplotě** na houpací nebo orbitální třepačce. Kapalinu odstraňte vakuovým odsáváním nebo pipetováním.
- Přidejte **1 ml přípravku Color Developer**.
- Inkubujte **15 min.** při **pokojové teplotě v temnu** na houpací nebo orbitální třepačce. Při pozitivní reakci se objeví fialové zbarvení.
- Proužky Teststrip několikrát promyjte destilovanou vodou. Nechte proužky uschnout **v temnu** na svém papíře.

Po vyvolání barvy nevystavujte proužky Teststrip intenzivnímu světlu.

### 3.4. Hybridizace (automatická) – volitelně místo vodní lázně a třepačky

Přístroj pro automatické zpracování proužků Teststrip musí splňovat následující požadavky:

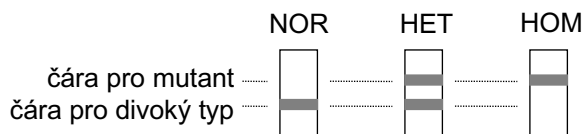
- Programovatelný teplotní a časový profil v souladu s částí 3.1 až 3.3 postupu testu StripAssay®.
- Integrovaná předehřívací stanice pro pufr Hybridization Buffer a roztok Wash Solution A.
- Ovládání teploty zásobníků během kroků hybridizace a důkladného promytí při teplotě 45 °C ± 1 °C.
- Systém aktivního chlazení pro zásobník zajišťující rychlý pokles teploty pro kroky kolorimetrické detekce při pokojové teplotě.
- Schopnost třepání zásobníku.
- Vyhřívané víko zásobníku, aby během inkubace nedocházelo k odpařování činidel.
- Rozdělení definovaných objemů činidel.
- Aspirace činidel.
- V závislosti na použitém přístroji a počtu vzorků zpracovaných v jednom běhu analýzy mohou být zapotřebí další činidla. Samostatná činidla StripAssay® Detection Reagents jsou k dispozici pro 20 testů (REF CS-012) a 48 testů (REF CS-017).

## VII. INTERPRETACE VÝSLEDKŮ

Genotyp vzorku se určí pomocí přiloženého listu Collector™ Sheet. Umístěte zpracovaný proužek Teststrip do jednoho z určených polí, zarovnejte jej se schematickým nákresem pomocí červené čáry značky (nahore) a zelené čáry značky (dole) a připevněte jej lepicí páskou.

Pozitivní reakce nejvyšší kontrolní čáry indikuje správnou funkci roztoku Conjugate Solution a přípravku Color Developer. Tato čára by měla být vždy pozitivní.

Pro každou polymorfní polohu je třeba získat jeden z následujících vzorů barvení (Obr. 2):



**Obr. 2: Genotypy – barevné vzory na proužku Teststrip**

	čára pro divoký typ	čára pro mutant	genotyp
NOR	<b>pozitivní</b>	negativní	normální
HET	<b>pozitivní</b>	<b>pozitivní</b>	heterozygotní
HOM	negativní	<b>pozitivní</b>	homozygotní mutant

**Poznámka:** Intenzita barvení pozitivních linií se může lišit. Na výsledek to nemá žádný vliv.

**Viz příklady výsledků testu StripAssay® na straně 18 (Obr. 3).**

Některé z mutací, které pokrývá test FMF StripAssay®, jsou umístěny v několika nukleotidech na genu *MEFV*. Na prouzcích Teststrip jsou tyto mutace reprezentovány běžnou sondou divokého typu, takže 12 mutací je pokryto pouze 8 sondami divokého typu:

Čára	Sonda pro divoký typ	Mutace
13	kodon 148	E148Q
14	kodon 369	P369S
15	kodon 479	F479L
16	kodon 680	M680I (G/C), M680I (G/A)
17	kodon 692–695	I692del, M694V, M694I, K695R
18	kodon 726	V726A
19	kodon 744	A744S
20	kodon 761	R761H

Vzorky, které jsou heterozygotní pro dvě z těchto mutací (např. M694V + M694I, M694V + K695R), budou postrádat běžný divoký typ signálu (viz příklady I a J, strana 18).

Stejně jako u každého diagnostického testu se mají výsledky testu FMF StripAssay® interpretovat v kontextu celkového klinického fenotypu pacienta a dalších lékařských vyšetření, která má lékař k dispozici. Společnost ViennaLab Diagnostics GmbH není odpovědná za jakákoli učiněná klinická rozhodnutí.

## VIII. HODNOCENÍ VÝKONNOSTI

**Správnost** testu FMF StripAssay® byla stanovena analýzou 173 předem vytipovaných vzorků genomové DNA. Výsledky byly zcela v souladu s referenční metodou (Sangerovo sekvenování, denaturační gradientová gelová elektroforéza (DGGE, denaturing gradient gel electrophoresis) a polymorfismus délky restrikčních fragmentů (RFLP, restriction fragment length polymorphism). Test správně detekoval 251 mutantních alel (= 100% pozitivní procentuální shoda) a 103 alel divokého typu (= 100% negativní procentuální shoda).

**Přesnost** testu FMF StripAssay® byla hodnocena jako variabilita mezi replikáty, pracovníky, dny, šaržemi činidel, termocyklery a hybridizačními zařízeními (ruční a poloautomatická hybridizace). Ve všech 106 replikátech testů provedených v rámci zkoumaných parametrů se prokázaly očekávané výsledky genotypizace. Byly viditelné pouze zanedbatelné rozdíly v intenzitě barvení proužků Teststrip a nebylo pozorováno žádné zbarvení pozadí. Test FMF StripAssay® byl validován v systémech AB GeneAmp® PCR System 2700, AB GeneAmp® PCR System 9700, AB Veriti a MJ Research PTC-200, které umožňují rychlost zahřátí a chlazení v rozsahu 1,7 až 4,2 °C/s, respektive 1,4 až 3,7 °C/s.

Použití termocyklerů musí být ověřeno uživatelem.

**Analytická specifita** je zajištěna především výběrem primerů specifických pro daný gen a záchytných sond specifických pro alely a také výběrem přísných reakčních podmínek. Analýzou srovnávání sekvencí se všemi sekvencemi publikovanými v genových databázích bylo prokázáno, že primery a sondy neobsahují možné homologie. Tím byla zajištěna detekovatelnost všech relevantních genotypů. Potenciální křížová reaktivita mezi záchytnými sondami byla ověřena syntetickou DNA nesoucí příslušný genový fragment. Nebyla pozorována žádná křížová reaktivita.

**Klinický výkon:** Posouzení klinického výkonu testů FMF StripAssay® s cílem podpořit klinický důkaz zahrnovalo systematické přezkoumání dostupných údajů a použitelných prvků. Výsledkem vyhledávání v literatuře bylo 22 publikací týkajících se bezpečnosti a výkonu testů FMF StripAssay®, které prokazují klinickou užitečnost testu FMF StripAssay®. V rámci srovnávacích studií nebyly zjištěny žádné nežádoucí příhody ani odchylky. Závěrem lze říct, že klinický výkon, přínosy a bezpečnost testu FMF StripAssay® jsou potvrzeny, pokud se prostředek používá dle určení k diagnostice familiární středomořské horečky.

## IX. INTERFERUJÍCÍ LÁTKY

Bylo testováno pět interferujících látek (hemoglobin, imunoglobulin G, stopy krve, ethanol a EDTA), které mohou být přítomny v preparátech DNA získaných z EDTA krve. Jejich vliv na PCR byl hodnocen na třech purifikovaných vzorcích DNA obohacených různými koncentracemi látek a porovnán s kontrolními vzorky bez jakýchkoli přidaných interferujících látek. Všechny vzorky byly analyzovány v triplikátu.

Konečná koncentrace < 10 µM hemoglobinu, 0,1 µM imunoglobulinu G, < 1 % periferní krve, 1,25 % ethanolu a 0,1 mM EDTA v reakci výkonnost testu StripAssay® neovlivnila.

## X. OMEZENÍ TESTU

Test FMF StripAssay® je určený výhradně k detekci 12 známých mutací uvedených v části III, které jsou zastoupeny zachytnými sondami specifickými pro alely na proužcích Teststrip. Ostatní mutace genu *MEFV*, které mohou být ve vzorku pacienta přítomné, nelze detekovat.

Vzácné nebo individuální varianty v místech vazby primerů a sond mohou vést k selhání amplifikace a k chybějícím signálům na proužcích Teststrip.

DNA vzorky získané jinými metodami než pomocí činidel a protokolu dodanými s testem FMF StripAssay® mohou v některých případech vykazovat slabé nebo chybějící signály pro divoký typ a mutant E148Q. Účinek je způsoben zhoršením účinností PCR pro tento částečný fragment a byl pozorován s několika oblíbenými soupravami pro extrakci DNA. Přehřátí takových DNA vzorků při teplotě 98 °C po dobu 10 minut následované okamžitým ochlazením na ledu nebo ve studeném bloku před přípravou PCR může zcela obnovit normální výnosy PCR.

Test FMF StripAssay® smí používat pouze profesionální laboratorní pracovníci.

## XI. HLEDISKA KVALITY

- K získání spolehlivých výsledků je nutné důkladně pochopit postup uvedený zde, znát standardní laboratorní techniky a mít vhodné vybavení.
- Soupravu StripAssay® nepoužívejte po uplynutí data expirace.
- Po prvním otevření primárního obalu jsou činidla testu StripAssay® stabilní až do data expirace vytištěného na vnějším štítku soupravy. Musí se ale řádně uchovávat při teplotě 2 °C až 8 °C.
- Aby nedošlo k mikrobiální kontaminaci a křížové kontaminaci činidel nebo vzorků, používejte sterilní jednorázové pipetové špičky. Nezaměňujte víčka lahví.
- Pouze k jednorázovému použití.

## XII. BEZPEČNOST

- Ve vyhrazených pracovních oblastech nepijte, nejezte, nekuřte ani nepoužívejte kosmetiku. Při manipulaci se vzorky a činidly soupravy používejte laboratorní pláště a jednorázové rukavice. Poté si důkladně umyjte ruce.
- Se vzorky zacházejte tak, jako by mohly přenášet infekční agens. Všechny materiály a povrchy, které byly v kontaktu se vzorky, důkladně očistěte a vydezinfikujte. Veškerý odpad související s klinickými vzorky vyhoďte do nádoby na biologický odpad.
- Dávejte pozor, aby se přípravky DNAT a Color Developer nedostaly do kontaktu s kůží, očima nebo sliznicemi. Pokud ke kontaktu dojde, okamžitě omyjte zasaženou část velkým množstvím vody. Pokud dojde k rozlítí, před utřením do sucha zřeďte vodou.
- Dodržujte všechny místní a federální bezpečnostní a environmentální předpisy, které se na používání testu mohou vztahovat.

### **XIII. TECHNICKÁ PODPORA**

Technickou podporu najdete:

- u místního distributora společnosti ViennaLab Diagnostics ([www.viennalab.com/distribution](http://www.viennalab.com/distribution)),
- ve výukových videích ([www.viennalab.com/support](http://www.viennalab.com/support)),
- v příručce k testu StripAssay® ([www.viennalab.com/support](http://www.viennalab.com/support)),
- v průvodci řešením problémů s testem StripAssay® ([www.viennalab.com/support](http://www.viennalab.com/support)),
- na e-mailové adrese [techhelp@viennalab.com](mailto:techhelp@viennalab.com).












### **XIV. LITERATURA**

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

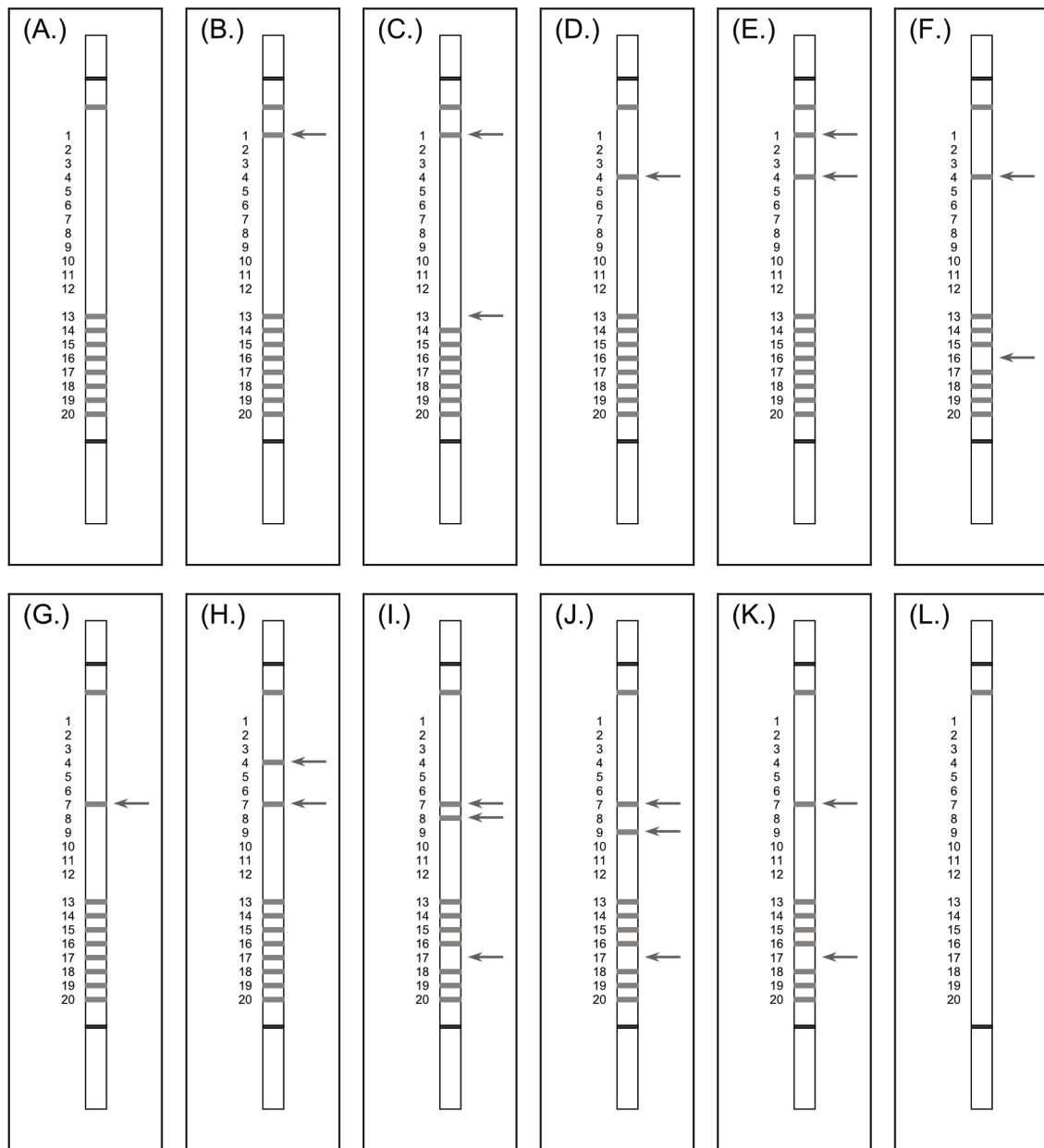
### **XV. ZPĚTNÁ VAZBA VÝROBCI**

Jakékoli vážné problémy, ke kterým v souvislosti s testem StripAssay® dojde, se musí hlásit kompetentnímu orgánu dané země a výrobci.

**XVI. SYMBOLY**

	Katalogové číslo
	Kód šarže
	Diagnostický zdravotnický prostředek <i>in vitro</i>
	V souladu s evropským nařízením o IVD 2017/746
0123	Identifikační číslo notifikovaného subjektu
	Dostačující pro <n> testů
	Teplotní limity pro skladování
	Použitelné do
	Výstraha
	Výrobce
	Datum výroby
	Přečtěte si návod k použití

XVII. PŘÍKLADY VÝSLEDKŮ TESTU




Obr. 3: Příklady výsledků získaných pomocí testu FMF StripAssay®

- |  |  |
|--|--|
| (A.) normální                          | (G.) M694V heterozygotní                 |
| (B.) E148Q heterozygotní               | (H.) M680I (G/C) – M694V heterozygotní   |
| (C.) E148Q homozygotní                 | (I.) M694V – M694I heterozygotní         |
| (D.) M680I (G/C) heterozygotní         | (J.) M694V – K695R heterozygotní         |
| (E.) E148Q – M680I (G/C) heterozygotní | (K.) M694V homozygotní                   |
| (F.) M680I (G/C) homozygotní           | (L.) negativní kontrola nebo selhání PCR |

**POZNÁMKY**

## XVIII. SOUVISEJÍCÍ PRODUKTY

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

**Distributor:**

 **Výrobce:**

 **ViennaLab®**

**ViennaLab Diagnostics GmbH**

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

t: +43 1 8120156-0

e: [info@viennalab.com](mailto:info@viennalab.com)

w: [www.viennalab.com](http://www.viennalab.com)