

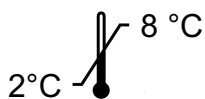
FMF StripAssay[®]

Instrucciones de uso

REF



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



IVD



Versión: rev 1.0/Español
eIFU y otros idiomas disponibles en
www.viennalab.com

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

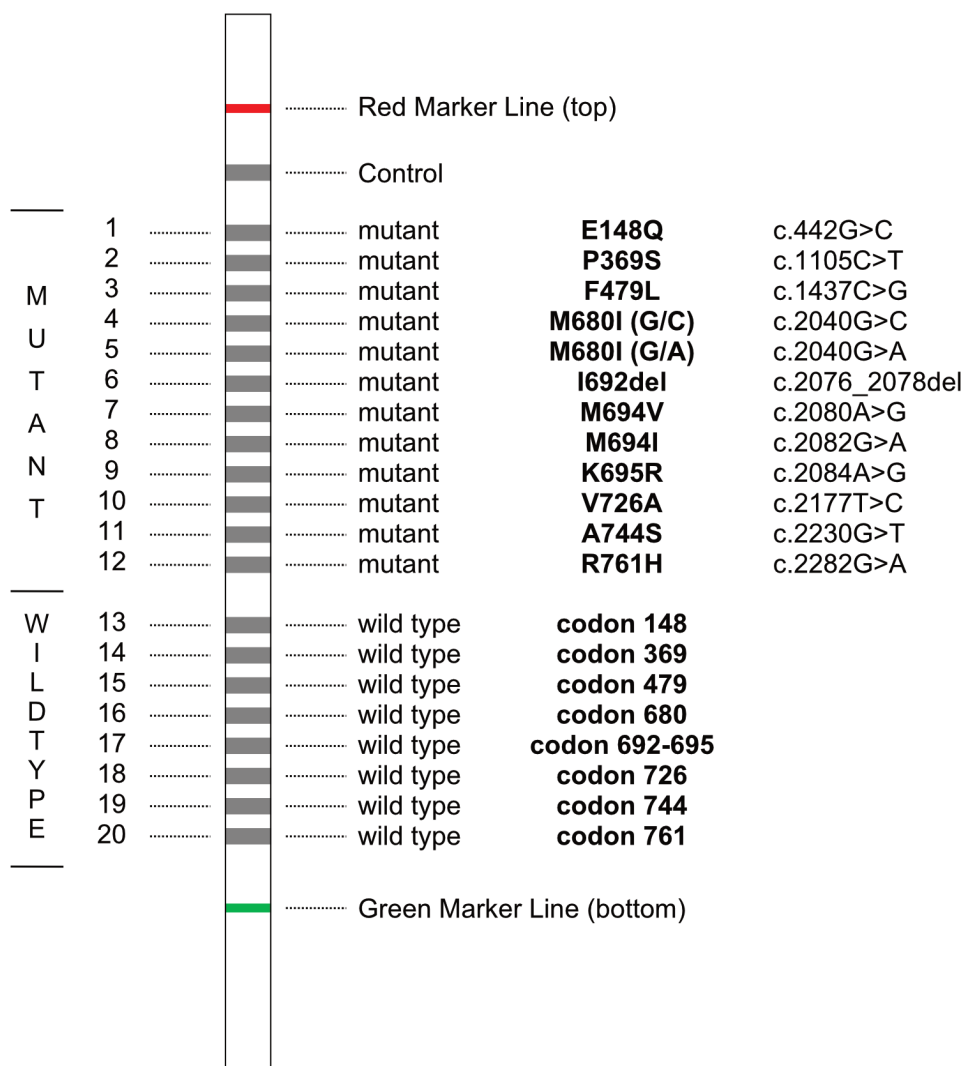
ÍNDICE

I.	FINALIDAD PREVISTA.....	4
II.	ANTECEDENTES	4
III.	METODOLOGÍA.....	4
IV.	COMPONENTES DEL KIT	6
V.	MATERIALES NECESARIOS PERO NO SUMINISTRADOS	7
VI.	PROCEDIMIENTO DE ENSAYO	8
VII.	INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS	12
VIII.	EVALUACIÓN DEL FUNCIONAMIENTO	14
IX.	SUSTANCIAS INTERFERENTES	14
X.	LIMITACIONES DEL ENSAYO	15
XI.	CONSIDERACIONES SOBRE CALIDAD	15
XII.	SEGURIDAD	15
XIII.	ASISTENCIA TÉCNICA	16
XIV.	REFERENCIAS	16
XV.	COMENTARIOS PARA EL FABRICANTE.....	16
XVI.	SÍMBOLOS.....	17
XVII.	EJEMPLOS DE RESULTADOS DE PRUEBA	18
XVIII.	PRODUCTOS RELACIONADOS	20

HISTORIAL DE REVISIONES:

versión	fecha	descripción
rev 1.0	2022-11	Adición de contenido relacionado con IVDR a la versión 2022-01.

El Resumen de seguridad y funcionamiento (SSP, Summary of Safety and Performance) de StripAssay® se puede obtener en la European Database on Medical Devices (EUDAMED): <https://ec.europa.eu/tools/eudamed> o solicitar al fabricante.



EN	ES
mutant	mutante
wildtype	natural
control	control
red marker line (top)	línea de marcador rojo (parte superior)
green marker line (bottom)	línea de marcador verde (parte inferior)

Fig. 1: Diseño de la Teststrip

Nota: Las Teststrips no se representan en tamaño real, por lo que no deben utilizarse para la interpretación de resultados.

I. FINALIDAD PREVISTA

FMF StripAssay® es una prueba genética cualitativa para análisis específico de 12 mutaciones frecuentes en el gen *MEFV* asociado a la poliserositis familiar recurrente (FMF, Familial Mediterranean Fever). Para el análisis se utilizan las muestras de ADN genómico extraído de las muestras de sangre entera periférica. FMF StripAssay® se ha diseñado como referencia para el diagnóstico de FMF en pacientes que presentan un patrón de síntomas clínicos coincidente con la FMF o familiares de riesgo de un paciente con mutación patógena *MEFV* identificada. Las pruebas StripAssay® se pueden realizar de forma manual o semiautomática.

Para uso en diagnóstico humano *in vitro*.

II. ANTECEDENTES

La poliserositis familiar recurrente (FMF, Familial Mediterranean Fever), el trastorno autoinflamatorio monogénico más frecuente, se caracteriza por episodios de fiebre recurrentes, acompañados de dolor en el abdomen (peritonitis), el tórax (pleuritis) o las articulaciones (artritis) y eritemas cutáneos similares a la erisipela. La amiloidosis sistémica reactiva (AA) es la principal complicación a largo plazo, con manifestación grave y pronóstico desfavorable. La FMF tiene un patrón autosómico recesivo de herencia en la mayoría de los casos y se observa principalmente en pacientes de poblaciones del Mediterráneo u Oriente Medio. La gran multitud de variantes del gen de la poliserositis familiar recurrente (*MEFV*) se han definido como defectos moleculares que provocan FMF. El propio gen *MEFV* está localizado en el cromosoma 16p13.3 y consta de 10 exones, que codifican la proteína de 781 aminoácidos conocida como pirina. La representación clínica de la FMF puede ser compleja, de ahí que las pruebas genéticas de las mutaciones *MEFV* se consideren una forma viable de corroborar el diagnóstico.

III. METODOLOGÍA

La prueba FMF StripAssay® se basa en los procesos de reacción en cadena de la polimerasa (PCR, polymerase chain reaction) e hibridación inversa. El procedimiento incluye tres pasos: (1) Aislamiento del ADN, (2) amplificación de la PCR mediante cebadores biotinilados, (3) hibridación de productos de amplificación en una Teststrip que contenga sondas de oligonucleótidos alelo específicas inmovilizadas como una matriz de líneas paralelas (Fig. 1). Las secuencias biotiniladas unidas se detectan mediante sustratos de color y fosfatasa alcalina-estreptavidina.

FMF StripAssay® permite detectar las siguientes mutaciones en el locus del gen *MEFV*:

	Nombre anterior	Nomenclatura HGVS		Ref. SNP
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

Secuencia de referencia (RefSeq, Reference Sequence):



NM_000243.2

NG_007871.1

La prueba se puede llevar a cabo de forma manual o semiautomática mediante los instrumentos designados para la automatización del procesamiento de Teststrip (véase la sección VI. 3.4).

IV. COMPONENTES DEL KIT

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 (tapa amarilla)	500 µl	2 x 500 µl	500 µl
4. Taq Dilution Buffer (tapa transparente)	500 µl	500 µl	500 µl
5. Taq DNA Polymerase (5 U/µl) (tapa roja)	75 U	125 U	75 U
6. DNAT (tapa azul)	1,5 ml	1,5 ml	1,5 ml
<p> Advertencia: DNAT incluye NaOH al 1,6 % H315: Provoca irritación cutánea H319: Provoca irritación ocular grave P280: Se deben usar guantes/prendas/gafas/máscara de protección P337 + P313: Si persiste la irritación ocular: Se debe acudir/consultar a un médico</p>			
7. Typing Trays	3	---	1
8. Teststrips	20	2 x 24	5
9. Hybridization Buffer (tapa blanca)	25 ml	65 ml	25 ml
10. Wash Solution A (tapa blanca)	80 ml	200 ml	80 ml
11. Conjugate Solution (tapa transparente)	25 ml	65 ml	25 ml
12. Wash Solution B (tapa transparente)	80 ml	200 ml	80 ml
13. Color Developer (tapa marrón)	25 ml	65 ml	25 ml
<p> Advertencia: Color Developer contiene ≤0,4 % de ácido maleico H317: Puede provocar una reacción alérgica en la piel P280: Se deben usar guantes/prendas/gafas/máscara de protección P302 + P352: En caso de contacto con la piel: lavar con abundante agua P333 + P313: En caso de irritación o erupción cutánea: se debe acudir/consultar a un médico</p>			
14. Instrucciones de uso	1	1	1
15. Collector™ Sheet	1	3	1

Nota: Conserve todos los reactivos a entre 2 °C y 8 °C cuando no los utilice.

Nombre del componente	Composición
Lysis Solution	Solución hipotónica que contiene KHCO ₃ , NH ₄ Cl, EDTA
GENXTRACT™ Resin	Chelex 100 Resin MB es una solución tamponada
Amplification Mix	Oligonucleótidos marcados con 5'-biotina de secuencia específica, una mezcla equimolar de trifosfatos desoxirribonucleósidos (dATP, dCTP, dGTP y dTTP), tampón de amonio, glicerol, azida de sodio al 0,05 %
Taq Dilution Buffer	Tampón para Taq DNA Polymerase, que incluye (NH ₄) ₂ SO ₄ y MgCl ₂ , azida de sodio al 0,05 %
Taq DNA Polymerase (5 U/µl)	Taq DNA Polymerase a una concentración de 5 U/µl
DNAT	Solución básica que contiene hidróxido sódico al 1,6 % y un colorante que indica un cambio en el pH
Typing Trays	Bandeja de plástico con ocho pocillos

Nombre del componente	Composición
Teststrips	Sondas de oligonucleótidos aleloespecíficas y control de hibridación inmovilizado como una matriz de líneas paralelas en una membrana reforzada con poliéster, demarcada por una línea roja en la parte superior y una verde en la inferior
Hybridization Buffer	Tampón de fosfato con <2 % de detergente
Wash Solution A	Tampón de citrato con <1 % de detergente
Conjugate Solution	Fosfatasa alcalina conjugada en estreptavidina y diluida en un tampón de base salina con azida de sodio al 0,05 %
Wash Solution B	Tampón Tris con detergente a <2 % y azida de sodio al 0,05 %
Color Developer	El sustrato de color para la fosfatasa alcalina contiene nitroazul de tetrazolio (NBT, nitro blue tetrazolium) y 5-bromo-4-cloro-3-indolilfosfato (BCIP, 5-bromo-4-chloro-3-indolyl phosphate)
Instrucciones de uso	Documento en papel impreso
Collector™ Sheet	Documento en papel impreso

V. MATERIALES NECESARIOS PERO NO SUMINISTRADOS

Además del equipo estándar para laboratorio de biología molecular, se precisa lo siguiente:

- Termobloques o termomezcladores para tubos de reacción de 1,5 ml con control de temperatura de hasta 99 °C
- Microcentrífuga ajustable con capacidad para 3000-12 000 rpm (1000-12 000 x g)
- Termociclador con tapa calefactada (para obtener especificaciones sobre las velocidades de rampa, consulte la sección VIII)
- Baño de agua con agitación, tapa y temperatura ajustable (45 °C ± 1 °C)
- Agitador (balancín o agitador orbital)

Opcional:

- Instrumento de aspiración de vacío
- Termoagitador para formato de placa de microvaloración con tapa y temperatura ajustable (45 °C ± 1 °C), p. ej., PST-60 HL (Biosan) o dispositivo equivalente
- Instrumento para hibridación automática, ajustable al perfil de temperatura/tiempo especificado en la sección VI. 3.4, p. ej., DYNABLOT Heat (Dynex) o dispositivo equivalente
- Equipo de electroforesis en gel de agarosa (para control de los productos de amplificación)

VI. PROCEDIMIENTO DE ENSAYO

1. Preparación de muestras

Muestra: use sangre fresca o congelada con anticoagulante EDTA. El ensayo no se ha probado con sangre que contenga citrato ni heparina. No almacene sangre durante más de 3 días a temperatura ambiente ni durante más de 1 semana a entre 2 °C y 8 °C antes de su uso. No se debe utilizar sangre que se haya mantenido congelada durante más de un año o que se haya sometido a más de tres ciclos de congelación-descongelación. En lo que respecta a la recogida y transporte de muestras, siga las instrucciones de uso del tubo de recogida de sangre con EDTA y las recomendaciones generales para la obtención de muestras de sangre.

Extracción de ADN: Deje que las muestras de sangre alcancen la temperatura ambiente. Mezcle bien; para ello, invierta varias veces con cuidado los tubos de recogida de sangre. Permita que Lysis Solution y GENXTRACT™ Resin alcancen la temperatura ambiente.

- Pipetee **100 µl muestra de sangre** en un microtubo de 1,5 ml con tapa roscada.
- Agregue **1 ml de Lysis Solution**, cierre el tubo y mezcle invirtiendo el tubo varias veces.
- Deje reposar durante **15 min** a temperatura ambiente.
- Centrifugue durante **5 min a 3000 rpm** (aprox. 1000 x g) en una microcentrífuga.
- Retire y deseche 1 ml de sobrenadante de la parte superior.
- Agregue **1 ml de Lysis Solution**, cierre el tubo y mezcle invirtiendo el tubo varias veces.
- Centrifugue durante **5 min a 12000 rpm** (aprox. 12000 x g) en una microcentrífuga.
- Retire y deseche el sobrenadante con la excepción de aprox. 50 µl de gránulos blandos visibles.
- Vuelva a suspender GENXTRACT™ Resin; para ello, remueva bien el frasco.
- Agregue **200 µl de GENXTRACT™ Resin** a los gránulos. Cierre el tubo y mezcle con vórtex durante 10 segundos.

Nota: GENXTRACT™ Resin se sedimenta rápidamente. Repita la suspensión cada vez inmediatamente antes de retirar otra parte alícuota.

- Incube durante **20 min a 56 °C**. Mezcle con vórtex durante 10 segundos.
- Incube durante **10 min a 98 °C**. Mezcle con vórtex durante 10 segundos.
- Centrifugue durante **5 min a 12 000 rpm** en una microcentrífuga. Enfríe en hielo.

El sobrenadante obtenido incluye la plantilla de ADN adecuada para uso inmediato en PCR. Si se desea conservarlo durante más tiempo, el sobrenadante se debe transferir a un tubo nuevo y mantener refrigerado (2 °C a 8 °C; hasta una semana) o congelado a entre -30 °C y -15 °C (a largo plazo).

No se ha validado el uso de otros métodos de aislamiento de ADN con FMF StripAssay®. En caso de utilizar otros sistemas de extracción de ADN, la concentración y pureza del ADN debe encontrarse dentro de un intervalo de 2 a 10 ng/µl y con una proporción de OD_{A260/280} de 1,7 a 2,0, respectivamente. Las concentraciones mayores de ADN deberán diluirse hasta el intervalo recomendado antes de someterse a PCR.

2. Amplificación *in vitro* (PCR)

Importante: Mantenga todos los reactivos de PCR y plantillas de ADN refrigerados durante todo el proceso.

- Cada vez que repita el procedimiento, vuelva a preparar una cantidad apropiada de solución de trabajo (1:25, conc. final 0,2 U/μl) de **Taq DNA Polymerase** (5 U/μl, tapa roja) en **Taq Dilution Buffer** (tapa transparente) para el número de muestras que se van a analizar, más el **control sin plantilla** (NTC, no-template control).

Componente	Por reacción p. ej., 10 reacciones	
Taq DNA Polymerase (5 U/μl)	0,2 μl	2 μl
Taq Dilution Buffer	4,8 μl	48 μl
Solución de trabajo	5 μl	50 μl

- Prepare un tubo de reacción para cada muestra que se amplificará. Coloque los tubos en hielo.
- Para cada muestra, prepare una mezcla de reacción PCR final en hielo:
 - 15 μl Amplification Mix** (tapa amarilla)
 - 5 μl Taq DNA Polymerase diluida** (1 U)
 - 5 μl de plantilla de ADN**

Nota: Se recomienda preparar una mezcla maestra para todas las muestras que contengan Taq DNA Polymerase diluida y Amplification Mix. En primer lugar, pipetee 20 μl de la mezcla maestra en cada tubo de PCR y después agregue la plantilla de ADN. Incluya un control sin plantilla en cada serie; para ello, utilice agua de calidad PCR en lugar de ADN (o, preferiblemente, el control negativo de su extracción de ADN).

En general, prepare las soluciones de trabajo/mezcla maestra con un volumen que supere el 10 % para compensar las imprecisiones de pipeteado.

- Tape bien los tubos. Precaliente el termociclador a 94°C.
- Inserte los tubos de reacción y ejecute el siguiente programa de termociclado:
 - Previo a la PCR: 94°C/2 min**
 - Termociclado: 94 °C/15 segundos - 58 °C/30 segundos - 72 °C/30 segundos (35 ciclos)**
 - Extensión final: 72°C/3 min**
- Conserve los productos de amplificación en hielo o entre 2 °C y 8 °C para su uso posterior.

Opcional: Analice los productos de amplificación mediante electroforesis en gel (p. ej., gel de agarosa al 3 %).

Longitudes de los fragmentos: 206, 236, 295, 318 bp

3. Procesamiento de las Teststrips

3.1. Hibridación (manual) – 1 Teststrip por muestra (45 °C, baño de agua con agitación)

Importante: Ajuste el nivel de agua del baño de agua a aproximadamente la mitad de la altura de la Typing Tray. Caliente el baño de agua hasta 45 °C exactamente. Compruebe la temperatura del agua con un termómetro calibrado. Precaliente el Hybridization Buffer y la Wash Solution A a 45 °C. Procure que todos los precipitados formados a entre 2 °C y 8 °C se disuelvan por completo. Permita que todos los componentes (Teststrips, DNAT, Conjugate Solution, Wash Solution B y Color Developer) alcancen la temperatura ambiente. Prepare una o varias Typing Trays.

Retire una Teststrip para cada muestra con unas pinzas limpias. ¡Las Teststrips solo se deben manipular con guantes sin talco! Etiquete las Teststrips fuera de las líneas de marcador con un lápiz (no utilice marcadores, bolígrafos, etc.).

- Pipetee **10 µl de DNAT** (tapa azul) en la esquina inferior de cada canal que se vaya a utilizar en las Typing Trays (un canal por muestra).
- Agregue **10 µl de producto de amplificación** a la gota correspondiente de DNAT.
- Mezcle bien con una pipeta. (La solución se mantendrá en color azul).
- Deje reposar durante **5 min** a temperatura ambiente.
- Agregue **1 ml de Hybridization Buffer** (precalentado a 45 °C) a cada canal. Agite suavemente la bandeja. (El color azul desaparecerá).
- Inserte las **Teststrip** con la parte marcada hacia arriba (líneas visibles) en los canales respectivos. Sumerja por completo.
- Incube durante **30 min a 45 °C** sobre la plataforma de agitación del baño de agua.

Establezca una frecuencia de agitación moderada (aprox. 50 rpm) para evitar derrames. Mantenga cerrada la cubierta del baño de agua para evitar variaciones en la temperatura.

- Al final de la incubación, retire las soluciones de hibridación mediante aspiración por vacío o pipeteo.

Prosiga con el procedimiento inmediatamente. No permita que las Teststrips se sequen durante todo el proceso.

3.2. Lavado completo (45 °C, baño de agua con agitación)

- Añada **1 ml de Wash Solution A** (precalentada a 45 °C). Lave brevemente (10 segundos). Extraiga el líquido mediante aspiración por vacío o pipeteo.
- Agregue **1 ml de Wash Solution A** (45 °C).
- Incube durante **15 min a 45 °C** en el baño de agua con agitación. Extraiga el líquido mediante aspiración por vacío o pipeteo.
- Agregue **1 ml de Wash Solution A** (45 °C).
- Incube durante **15 min a 45 °C** en el baño de agua con agitación. Extraiga el líquido mediante aspiración por vacío o pipeteo.

3.3. Detección colorimétrica (temperatura ambiente, 22 °C ± 3 °C)

- Agregue **1 ml de Conjugate Solution**.
- Incube durante **15 min a temperatura ambiente** en un balancín o agitador orbital. Extraiga el líquido mediante aspiración por vacío o pipeteo.
- Agregue **1 ml de Wash Solution B**. Lave brevemente (10 segundos). Extraiga el líquido mediante aspiración por vacío o pipeteo.
- Agregue **1 ml de Wash Solution B**.
- Incube durante **5 min a temperatura ambiente** en un balancín o agitador orbital. Extraiga el líquido mediante aspiración por vacío o pipeteo.
- Agregue **1 ml de Wash Solution B**.
- Incube durante **5 min a temperatura ambiente** en un balancín o agitador orbital. Extraiga el líquido mediante aspiración por vacío o pipeteo.
- Agregue **1 ml de Color Developer**.
- Incube durante **15 min a temperatura ambiente en la oscuridad** en un balancín o agitador orbital. Aparecerá una mancha púrpura tras la reacción positiva.
- Lave las Teststrips varias veces con agua destilada. Permita que las tiras sequen a oscuras en papel absorbente.

No exponga las Teststrips a una luz intensa tras haber agregado Color Development.

3.4. Hibridación (automática): proceso opcional en lugar del baño de agua con agitación

Los instrumentos para el procesamiento automático de las Teststrips deben cumplir los siguientes requisitos:

- Perfil de tiempo y temperatura programable de acuerdo con las secciones 3.1 a 3.3 del procedimiento StripAssay®.
- Estación de precalentamiento integrada para Hybridization Buffer y Wash Solution A.
- Control de temperatura de bandejas durante los pasos de hibridación y lavado completo a 45 °C ± 1 °C.
- Sistema de enfriamiento activo de la bandeja para garantizar una reducción de temperatura rápida en los pasos de detección colorimétrica a temperatura ambiente.
- Capacidad de agitación para la bandeja.
- Tapa calefactada para la bandeja para evitar la evaporación de reactivos durante la incubación.
- Dispensación de volúmenes de reactivo definidos.
- Aspiración de reactivos.
- Dependiendo del instrumento utilizado y del número de muestras procesadas en una secuencia, quizá sean necesarios reactivos adicionales. Hay disponibles StripAssay® Detection Reagents específicos para 20 (REF CS-012) y 48 pruebas (REF CS-017).

VII. INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS

El genotipo de una muestra se determina mediante la Collector™ Sheet incluida. Coloque la Teststrip procesada en uno de los campos designados, alinéela con la figura esquemática mediante la línea de marcador rojo (parte superior) y la línea de marcador verde (parte inferior) y péguela con cinta adhesiva.

Una reacción positiva de la línea de control superior indica el funcionamiento correcto de Conjugate Solution y Color Developer. El color de esta línea siempre debe ser positivo.

En cada posición polimórfica, se debe obtener uno de los siguientes patrones de tinción (Fig. 2):

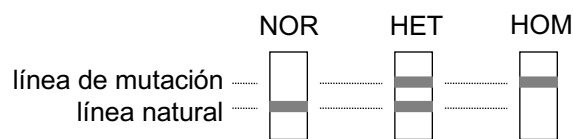


Fig. 2: Genotipos: patrones de tinción en la Teststrip

	línea natural	línea de mutación	genotipo
NOR	positivo	negativo	normal
HET	positivo	positivo	heterocigótico
HOM	negativo	positivo	mutante homocigótico

Nota: Las intensidades de tinción de las líneas positivas pueden variar. Esto no tiene ninguna importancia en relación con el resultado.

Consulte varios ejemplos de resultados de StripAssay® en la página 18 (Fig. 3).

Algunas de las mutaciones que abarca la prueba FMF StripAssay® se encuentran en varios nucleótidos del gen *MEFV*. En las Teststrips se representan mediante una sonda de tipo natural común, de forma que las 12 mutaciones queden cubiertas por 8 sondas de tipo natural:

línea	sonda de tipo natural	mutación
13	codón 148	E148Q
14	codón 369	P369S
15	codón 479	F479L
16	codón 680	M680I (G/C), M680I (G/A)
17	codón 692-695	I692del, M694V, M694I, K695R
18	codón 726	V726A
19	codón 744	A744S
20	codón 761	R761H

Las muestras que son heterocigóticas compuestas para dos de estas mutaciones (p. ej., M694V + M694I o M694V + K695R) carecerán de la señal de tipo natural común (consulte los ejemplos I y J, página 18).

Al igual que ocurre en cualquier prueba de diagnóstico, los resultados de FMF StripAssay® se deben interpretar en el contexto del fenotipo clínico general del paciente y otras investigaciones médicas disponibles para el médico. ViennaLab Diagnostics GmbH no se responsabiliza por las decisiones clínicas tomadas.

VIII. EVALUACIÓN DEL FUNCIONAMIENTO

La **precisión** de FMF StripAssay® se determinó mediante un análisis de 173 muestras de ADN genómico pretipadas. Los resultados concuerdan por completo con el método de referencia (secuenciación Sanger, electroforesis en gel con gradiente de desnaturalización (DGGE, Denaturing Gradient Gel Electrophoresis) y fragmentos de restricción de longitud polimórfica (RFLP, Restriction Fragment Length Polymorphism). El ensayo detectó correctamente 251 alelos mutantes (= porcentaje de concordancia positiva del 100 %) y 103 alelos de tipo natural (= porcentaje de concordancia negativa del 100 %).

La **precisión** de la prueba FMF StripAssay® se evaluó como la variabilidad entre réplicas, operadores, días, lotes de reactivos, termocicladores y dispositivos de hibridación (hibridación manual y semiautomática). En total se realizaron 106 réplicas de pruebas bajo los parámetros investigados, todas las pruebas demostraron los resultados de genotipado. Solo fueron visibles diferencias insignificantes en la intensidad de la tinción de Teststrips, y no se observó ninguna tinción de fondo. La prueba FMF StripAssay® se validó en los equipos AB GeneAmp® PCR System 2700, AB GeneAmp® PCR System 9700, AB Veriti y MJ Research PTC-200, lo que en total equivale a un índice de calentamiento y enfriamiento dentro de los intervalos de 1,7 a 4,2°C/segundo y 1,4 a 3,7°C/segundo, respectivamente.

El usuario deberá realizar una verificación en caso de utilizar otros termocicladores.

Ante todo, la **especificidad analítica** se garantizará por la selección de los cebadores específicos del gen y las sondas de captura aleloespecíficas, así como por la selección de las estrictas condiciones de reacción. Los cebadores y sondas se comprobaron para identificar posibles homologías en todas las secuencias publicadas en las bases de datos genéticas mediante un análisis de comparación de secuencias. Por lo tanto, la capacidad de detección de todos los fenotipos pertinentes se ha garantizado. La reactividad cruzada potencial entre las sondas de captura se verificó mediante ADN sintético que porta el fragmento de gen respectivo. No se observó reactividad cruzada.

Funcionamiento clínico: La evaluación del funcionamiento clínico de las pruebas FMF StripAssay® como respaldo de las pruebas clínicas incluyó una revisión sistemática de los datos disponibles y los elementos aplicables. Como resultado de la búsqueda bibliográfica, se identificaron 22 publicaciones relacionadas con la seguridad y el funcionamiento de las pruebas FMF StripAssay®, lo que demuestra la utilidad clínica de FMF StripAssay®. No se detectó ningún acontecimiento adverso ni desviación en los estudios de comparación de métodos. En resumen, el funcionamiento clínico, los beneficios y la seguridad de FMF StripAssay® se confirman cuando el dispositivo se utiliza para diagnóstico de la poliserositis familiar recurrente.

IX. SUSTANCIAS INTERFERENTES

Se han probado cinco sustancias interferentes (hemoglobina, inmunoglobulina G, restos de sangre, etanol y EDTA) que pueden estar presentes en preparados de ADN obtenidos de sangre con EDTA. Sus efectos sobre la PCR se evaluaron en tres muestras de ADN purificadas enriquecidas con diversas concentraciones de sustancias y se compararon con los controles correspondientes sin incluir ninguna sustancia interferente. Todas las muestras se analizaron por triplicado.

Una concentración final de <10 µM de hemoglobina, 0,1 µM de inmunoglobulina G, <1 % de sangre periférica, 1,25 % de etanol o 0,1 mM de EDTA en la reacción no interfirieron con el funcionamiento de StripAssay®.

X. LIMITACIONES DEL ENSAYO

FMF StripAssay® se ha diseñado exclusivamente para la detección de 12 mutaciones conocidas, tal como se enumeran en la sección III, que están representadas por sondas de captura aleloespecíficas en las Teststrips. No se podrán detectar otras mutaciones de *MEFV* que pueden estar presentes en la muestra de un paciente.

Las variantes raras o privadas en cebadores y sitios de unión de cebadores quizá puedan dar lugar a fallos de amplificación y omisión de señales en las Teststrips.

Las muestras de ADN obtenidas mediante métodos que no sean los reactivos y protocolos suministrados con FMF StripAssay® pueden, en algunos casos, presentar señales débiles u omitir señales para E148Q mutante y de tipo natural. El efecto, debido a deficiencias de eficacia de la PCR en relación con este fragmento en particular, se ha observado con varios kits de extracción de ADN conocidos. El precalentamiento de este tipo de muestras de ADN a 98 °C durante 10 min, seguido inmediatamente del enfriamiento en hielo o un bloque de frío antes de la configuración de la PCR, puede restaurar completamente los resultados normales de la PCR.

FMF StripAssay® se ha diseñado exclusivamente para uso profesional en laboratorios.

XI. CONSIDERACIONES SOBRE CALIDAD

- Para obtener resultados fiables, se requiere un conocimiento exhaustivo tanto del procedimiento descrito en este documento, como de las técnicas de laboratorio y el equipo apropiado.
- No utilice los kits StripAssay® si se ha superado la fecha de caducidad.
- Tras abrir el envase principal, los reactivos StripAssay® serán estables hasta la fecha de caducidad impresa en la etiqueta exterior del kit si se almacenan adecuadamente entre 2 °C y 8 °C.
- Use puntas de pipeta desechables estériles con filtros para evitar la contaminación microbiana y la contaminación cruzada de reactivos o muestras. No intercambie las tapas de los frascos.
- Un solo uso.

XII. SEGURIDAD

- No beba, coma, fuma ni utilice cosméticos en las áreas de trabajo designadas. Lleve bata de laboratorio y guantes desechables al manipular las muestras y los reactivos del kit. Lávese bien las manos después del procedimiento.
- Manipule las muestras como si existiera la posibilidad de transmisión de agentes infecciosos. Limpie y desinfecte por completo todos los materiales y superficies que estén en contacto con las muestras. Deseche todos los residuos asociados a las muestras clínicas en un contenedor para materiales de riesgo biológico.
- Evite el contacto de DNAT y Color Developer con la piel, los ojos o las membranas mucosas. En caso de contacto, lave de inmediato la zona con agua abundante. En caso de derrame, diluya con agua antes de secar.
- Cumpla todas las normativas medioambientales y de seguridad locales y federales vigentes.

XIII. ASISTENCIA TÉCNICA

Para obtener asistencia técnica:

- Póngase en contacto con el distribuidor local de ViennaLab Diagnostics (www.viennalab.com/distribution)
- Consulte los tutoriales de vídeo (www.viennalab.com/support)
- Consulte el manual de StripAssay® (www.viennalab.com/support)
- Consulte la guía de solución de problemas de StripAssay® (www.viennalab.com/support)
- Póngase en contacto con techhelp@viennalab.com












XIV. REFERENCIAS

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

XV. COMENTARIOS PARA EL FABRICANTE

Si se produce un incidente grave en relación con el ensayo StripAssay®, se deberá comunicar a la autoridad competente del país y al fabricante.

XVI. SÍMBOLOS

	N.º de catálogo
	Código de lote
	Producto sanitario para diagnóstico <i>in vitro</i>
	Conforme con la normativa europea sobre IVD 2017/746
0123	N.º de identificación del organismo notificado
	Suficiente para <n> pruebas
	Límites de temperatura de almacenamiento
	Fecha de caducidad
	Precaución
	Fabricante
	Fecha de fabricación
	Consulte las instrucciones de uso

XVII. EJEMPLOS DE RESULTADOS DE PRUEBA

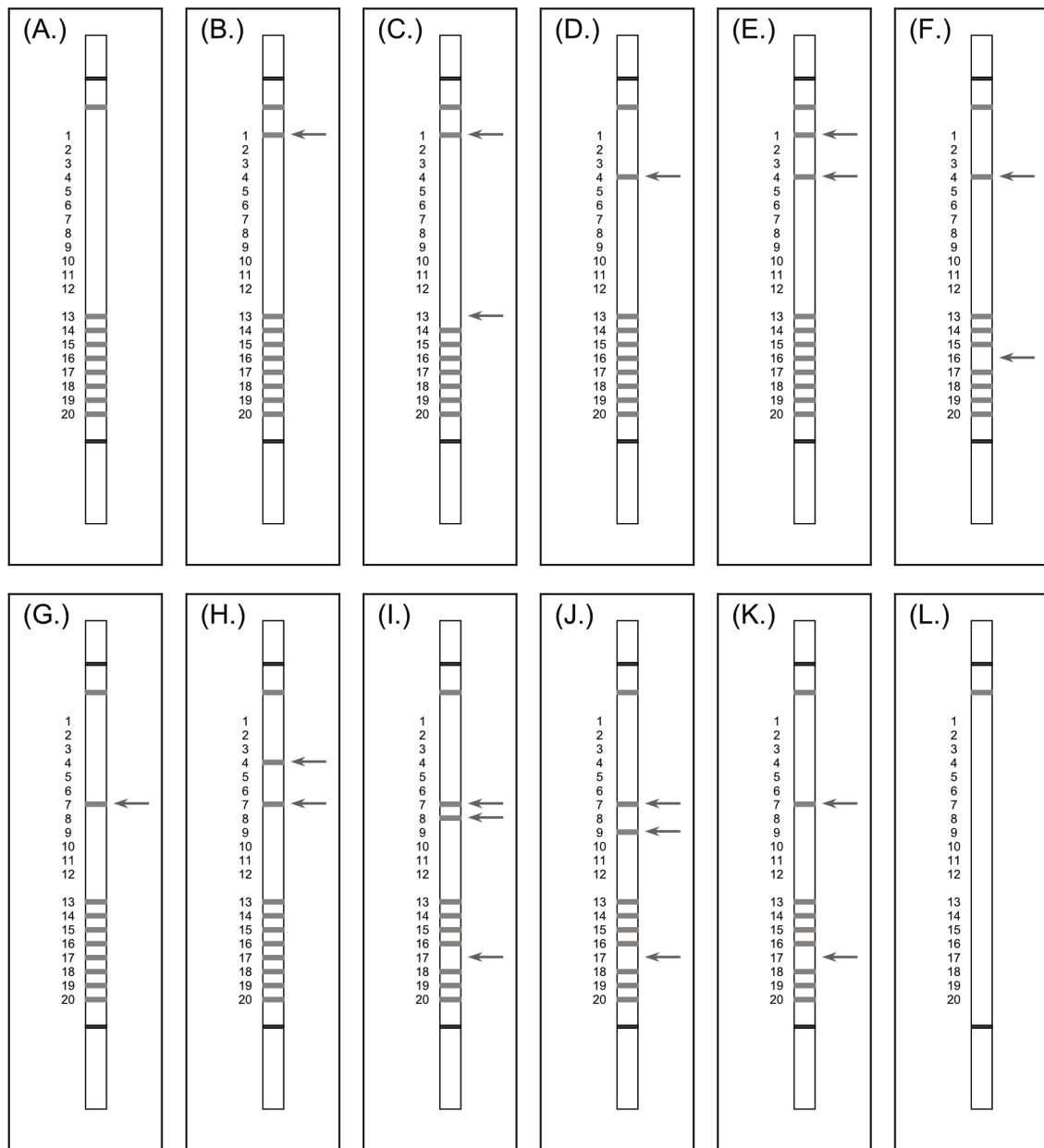



Fig. 3: Ejemplos de resultados obtenidos con FMF StripAssay®

- | | |
|---|---|
| (A.) normal | (G.) M694V heterocigótico |
| (B.) E148Q heterocigótico | (H.) M680I (G/C) - M694V heterocigótico |
| (C.) E148Q homocigótico | (I.) M694V - M694I heterocigótico |
| (D.) M680I (G/C) heterocigótico | (J.) M694V - K695R heterocigótico |
| (E.) E148Q - M680I (G/C) heterocigótico | (K.) M694V homocigótico |
| (F.) M680I (G/C) homocigótico | (L.) control negativo o fallo de la PCR |

NOTAS

XVIII. PRODUCTOS RELACIONADOS

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

Distribuidor:



Fabricante:



ViennaLab Diagnostics GmbH

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

t: +43 1 8120156-0

e: info@viennalab.com

w: www.viennalab.com