

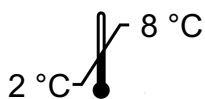
FMF StripAssay[®]

Notice d'utilisation

REF



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



IVD



Version : rév. 1.0 / Français
Notice d'utilisation électronique et autres
langues disponibles sur 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

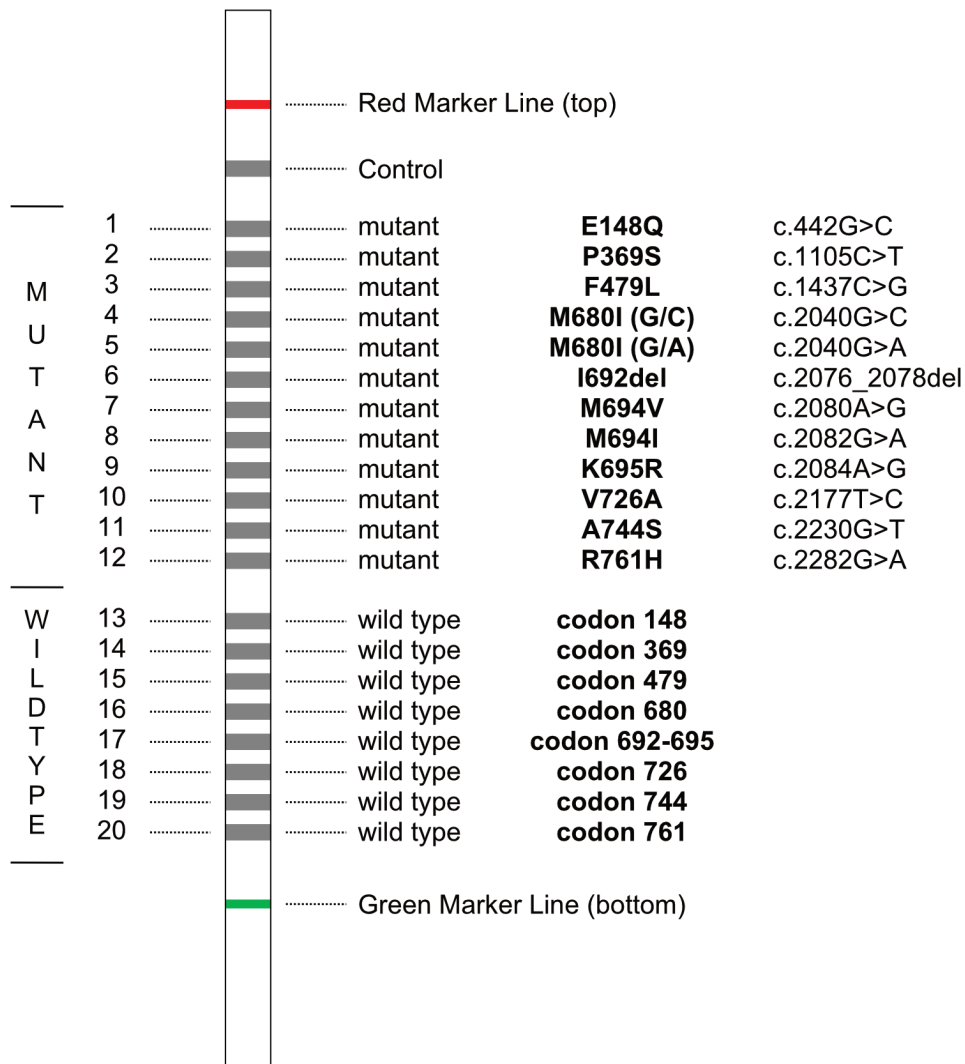
TABLE DES MATIÈRES

I.	USAGE PRÉVU	4
II.	RAPPELS	4
III.	MÉTHODOLOGIE	4
IV.	CONTENU DE LA TROUSSE	6
V.	MATÉRIEL REQUIS, MAIS NON FOURNI	7
VI.	PROCÉDURE DE TEST	8
VII.	INTERPRÉTATION DES RÉSULTATS	12
VIII.	ÉVALUATION DES PERFORMANCES	14
IX.	SUBSTANCES INTERFÉRENTES	14
X.	LIMITES DU TEST	15
XI.	CONSIDÉRATIONS RELATIVES À LA QUALITÉ	15
XII.	SÉCURITÉ	15
XIII.	ASSISTANCE TECHNIQUE	16
XIV.	RÉFÉRENCES	16
XV.	SIGNALEMENT AU FABRICANT	16
XVI.	SYMBOLES	17
XVII.	EXEMPLES DE RÉSULTATS DE TEST	18
XVIII.	PRODUITS CONNEXES	20

HISTORIQUE DES RÉVISIONS :

version	date	description
Rév. 1.0	2022-11	Ajout de contenu lié au règlement IVDR à la version 2022-01.

Le résumé des caractéristiques de sécurité et des performances (SSP, Summary of Safety and Performance) du StripAssay® est disponible dans la base de données européenne sur les dispositifs médicaux (EUDAMED, European Database on Medical Devices) à l'adresse <https://ec.europa.eu/tools/eudamed> ou auprès du fabricant.



EN	FR
mutant	mutation
wildtype	type sauvage
control	contrôle
red marker line (top)	ligne rouge (haut)
green marker line (bottom)	ligne verte (bas)

Fig. 1 : Conception des Teststrips

Remarque : les Teststrips ne sont pas représentées à la taille réelle et les illustrations ne doivent pas être utilisées à des fins d'interprétation des résultats !

I. USAGE PRÉVU

Le FMF StripAssay® est un test génétique qualitatif pour l'analyse ciblée de 12 mutations fréquentes du gène *MEFV* associées à la fièvre méditerranéenne familiale (FMF, Familial Mediterranean Fever). Les tests sont effectués à partir d'ADN génomique extrait d'échantillons de sang périphérique total. Le FMF StripAssay® est conçu pour faciliter le diagnostic de la FMF chez les patients présentant des symptômes cliniques compatibles avec la FMF ou chez les parents d'un patient porteur d'une mutation pathogène identifiée du gène *MEFV*. Le test StripAssay® peut être effectué manuellement ou de manière semi-automatisée.

Pour usage diagnostique humain *in vitro*.

II. RAPPELS

La fièvre méditerranéenne familiale (FMF) est la maladie auto-inflammatoire monogénique la plus courante. Elle se caractérise par des épisodes fébriles récurrents, accompagnés de douleurs abdominales (péritonite), thoraciques (pleurite) ou articulaires (arthrite), et d'un érythème cutané de type érysipèle. L'amylose systémique réactive (AA) en est la principale complication à long terme, avec une manifestation sévère de mauvais pronostic. Touchant principalement les populations du bassin méditerranéen et du Moyen-Orient, la FMF se transmet selon un mode autosomique récessif dans la plupart des cas. De nombreux variants du gène de la fièvre méditerranéenne (*MEFV*) sont décrits comme des anomalies moléculaires à l'origine de la FMF. Le gène *MEFV* à proprement parler se situe sur le chromosome 16p13.3 et comprend 10 exons codant une protéine de 781 acides aminés connue sous le nom de pyrine. La présentation clinique de la FMF peut s'avérer complexe, c'est pourquoi les tests génétiques de détection des mutations *MEFV* peuvent contribuer à confirmer le diagnostic.

III. MÉTHODOLOGIE

Le FMF StripAssay® est basé sur la réaction en chaîne par polymérase (PCR, polymerase chain reaction) et l'hybridation inverse. La procédure de test comporte trois étapes : 1) isolement de l'ADN, 2) amplification par PCR à l'aide d'amorces biotinylées, et 3) hybridation des produits d'amplification sur une Teststrip contenant des sondes oligonucléotidiques spécifiques d'un allèle, qui sont immobilisées en lignes parallèles (Fig. 1). Les séquences biotinylées liées sont détectées en utilisant la streptavidine couplée à la phosphatase alcaline et des substrats colorimétriques.

Le FMF StripAssay® détecte les mutations suivantes dans le locus du gène *MEFV* :

	désignation	nomenclature de la 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

Séquence de référence (RefSeq, Reference Sequence) :



NM_000243.2

NG_007871.1

Le test peut être effectué manuellement ou de manière semi-automatisée en utilisant des instruments conçus pour le traitement automatisé des Teststrips (voir rubrique VI. 3.4).

IV. CONTENU DE LA TROUSSE

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 (<i>bouchon jaune</i>)	500 µl	2 x 500 µl	500 µl
4. Taq Dilution Buffer (<i>bouchon transparent</i>)	500 µl	500 µl	500 µl
5. Taq DNA Polymerase (5 U/µl) (<i>bouchon rouge</i>)	75 U	125 U	75 U
6. DNAT (<i>bouchon bleu</i>)	1,5 ml	1,5 ml	1,5 ml
 Avertissement : le DNAT contient 1,6 % de NaOH. H315 : Provoque une irritation cutanée. H319 : Provoque une sévère irritation des yeux. P280 : Porter des gants de protection/des vêtements de protection/un équipement de protection des yeux/du visage. P337 + P313 : Si l'irritation oculaire persiste : consulter un médecin.			
7. Typing Trays	3	---	1
8. Teststrips	20	2 x 24	5
9. Hybridization Buffer (<i>bouchon blanc</i>)	25 ml	65 ml	25 ml
10. Wash Solution A (<i>bouchon blanc</i>)	80 ml	200 ml	80 ml
11. Conjugate Solution (<i>bouchon transparent</i>)	25 ml	65 ml	25 ml
12. Wash Solution B (<i>bouchon transparent</i>)	80 ml	200 ml	80 ml
13. Color Developer (<i>bouchon marron</i>)	25 ml	65 ml	25 ml
 Avertissement : le Color Developer contient ≤ 0,4 % d'acide maléique. H317 : Peut provoquer une allergie cutanée. P280 : Porter des gants de protection/des vêtements de protection/un équipement de protection des yeux/du visage. P302 + P352 : En cas de contact avec la peau : laver abondamment à l'eau et au savon. P333 + P313 : En cas d'irritation ou d'éruption cutanée : consulter un médecin.			
14. Notice d'utilisation	1	1	1
15. Collector™ Sheet	1	3	1

Remarque : conserver tous les réactifs à une température comprise entre 2 et 8 °C lorsqu'ils ne sont pas utilisés !

nom du composant	composition
Lysis Solution	solution hypotonique contenant du bicarbonate de potassium (KHCO ₃), du chlorure d'ammonium (NH ₄ Cl) et de l'EDTA
GENXTRACT™ Resin	résine MB Chelex 100 dans une solution tamponnée
Amplification Mix	oligonucléotides marqués à la biotine en 5', un mélange équimolaire de désoxyribonucléotides triphosphates (dATP, dCTP, dGTP et dTTP), tampon de sulfate d'ammonium, glycérol, azoture de sodium à 0,05 %
Taq Dilution Buffer	tampon pour Taq DNA Polymerase, contenant (NH ₄) ₂ SO ₄ et MgCl ₂ , azoture de sodium à 0,05 %
Taq DNA Polymerase (5 U/µl)	Taq DNA polymérase à une concentration de 5 U/µl
DNAT	solution basique contenant de l'hydroxyde de sodium à 1,6 % et un colorant bleu indiquant une modification du pH
Typing Trays	plaque de huit puits en plastique

nom du composant	composition
Teststrips	sondes oligonucléotidiques spécifiques d'un allèle et contrôle d'hybridation, immobilisés en lignes parallèles sur une membrane renforcée en polyester délimitée par une ligne rouge en haut et une ligne verte en bas.
Hybridization Buffer	tampon de phosphate contenant < 2 % de détergent
Wash Solution A	tampon de citrate contenant < 1 % de détergent
Conjugate Solution	streptavidine conjuguée à la phosphatase alcaline, diluée dans un tampon à base saline contenant 0,05 % d'azoture de sodium
Wash Solution B	tampon tris contenant < 2 % de détergent et 0,05 % d'azoture de sodium
Color Developer	substrat colorimétrique pour la phosphatase alcaline contenant du bleu de nitrotétrazolium (NBT, nitro blue tetrazolium) et du phosphate 5-bromo-4-chloro-3-indolyl (BCIP, 5-bromo-4-chloro-3-indolyl phosphate)
Notice d'utilisation	imprimé sur papier
Collector™ Sheet	imprimé sur papier

V. MATÉRIEL REQUIS, MAIS NON FOURNI

Outre l'équipement standard du laboratoire de biologie moléculaire, le matériel suivant est nécessaire :

- Bloc thermique ou mélangeur thermique pour microtubes de 1,5 ml avec un contrôle de la température jusqu'à 99 °C
- Microcentrifugeuse réglable sur 3 000 à 12 000 tr/min (1 000-12 000 x g)
- Thermocycleur muni d'un toit chauffant (pour les vitesses de montée en température, voir rubrique VIII)
- Bain-marie avec plateau d'agitation, couvercle et réglage de la température (45 °C ± 1 °C)
- Agitateur (linéaire ou orbital)

Facultatif :

- Appareil d'aspiration
- Agitateur thermique pour plaque de microtitrage avec couvercle et réglage de la température (45 °C ± 1 °C), p. ex. PST-60 HL (Biosan) ou dispositif équivalent
- Instrument pour l'hybridation automatisée, température et durée programmables, comme décrit à la rubrique VI. 3.4, p. ex. DYNABLOT Heat (Dynex) ou dispositif équivalent
- Équipement d'électrophorèse sur gel d'agarose (pour le contrôle des produits d'amplification)

VI. PROCÉDURE DE TEST

1. Préparation des échantillons

Échantillon : Utiliser du sang frais ou congelé sur anticoagulant EDTA. Le sang hépariné ou citraté n'a pas été testé. Ne pas conserver le sang plus de 3 jours à température ambiante ou plus d'une semaine entre 2 et 8 °C avant utilisation. Ne pas utiliser du sang congelé pendant plus d'un an ou soumis à plus de trois cycles de congélation-décongélation. Pour le prélèvement et le transport des échantillons, suivre la notice d'utilisation du tube de prélèvement sanguin sur EDTA ainsi que les recommandations générales sur les prélèvements sanguins.

Extraction de l'ADN : Amener les échantillons de sang à température ambiante. Mélanger soigneusement en inversant les tubes de prélèvement sanguin plusieurs fois avec précaution. Porter les produits Lysis Solution et GENXTRACT™ Resin à température ambiante.

- Pipeter **100 µl de l'échantillon sanguin** dans un microtube de 1,5 ml avec bouchon à vis.
- Ajouter **1 ml de Lysis Solution**, boucher le microtube et mélanger en l'inversant plusieurs fois.
- Laisser reposer **15 min** à température ambiante.
- Centrifuger pendant **5 min à 3 000 tr/min** (env. 1 000 x g) dans une microcentrifugeuse.
- Retirer et éliminer 1 ml de surnageant dans sa partie la plus haute (en surface).
- Ajouter **1 ml de Lysis Solution**, boucher le microtube et mélanger en l'inversant plusieurs fois.
- Centrifuger pendant **5 min à 12 000 tr/min** (env. 12 000 x g) dans une microcentrifugeuse.
- Retirer et éliminer le surnageant à l'exception de 50 µl env. d'un culot mou visible.
- Remettre GENXTRACT™ Resin en suspension en faisant tourner le flacon soigneusement.
- Ajouter **200 µl de GENXTRACT™ Resin** au culot. Boucher le microtube, puis vortexer pendant 10 s.

Remarque : GENXTRACT™ Resin sédimente rapidement. Remettre en suspension à chaque fois, juste avant de retirer une autre aliquote.

- Incuber pendant **20 min à 56 °C**. Vortexer pendant 10 s.
- Incuber pendant **10 min à 98 °C**. Vortexer pendant 10 s.
- Centrifuger pendant **5 min à 12 000 tr/min** dans une microcentrifugeuse. Refroidir sur de la glace.

Le surnageant ainsi obtenu contient une matrice d'ADN appropriée pour une utilisation immédiate en PCR. Pour une conservation de longue durée, le surnageant doit être transféré dans un autre tube et conservé au réfrigérateur (entre 2 et 8 °C ; pendant une semaine max.) ou au congélateur entre -30 et -15 °C (longue durée).

L'utilisation d'autres méthodes d'isolement de l'ADN avec le FMF StripAssay® n'a pas été validée. Si d'autres systèmes d'extraction de l'ADN sont utilisés, la concentration de l'échantillon doit être située dans une plage de 2 à 10 ng/µl et le rapport de DO_{A260/A280}, qui mesure la pureté, entre 1,7 et 2,0. Si la concentration d'ADN est supérieure, l'échantillon doit être dilué à une concentration située dans la plage recommandée avant la PCR.

2. Amplification *in vitro* (PCR)

Important : conserver tous les réactifs pour PCR et les matrices d'ADN au réfrigérateur tout au long de la procédure.

- Préparer à chaque fois une quantité suffisante de solution de travail fraîche (1/25, concentration finale de 0,2 U/µl) de **Taq DNA Polymerase** (5 U/µl, bouchon rouge) dans du **Taq Dilution Buffer** (bouchon transparent) pour le nombre d'échantillons à analyser et pour le **contrôle sans matrice** (NTC, no-template control).

composant	par réaction	p. ex. 10 réactions
Taq DNA Polymerase (5 U/µl)	0,2 µl	2 µl
Taq Dilution Buffer	4,8 µl	48 µl
solution de travail	5 µl	50 µl

- Préparer un microtube pour chaque échantillon à amplifier. Placer les microtubes sur de la glace.
- Pour chaque échantillon, préparer un mélange final pour PCR sur de la glace :
 - 15 µl Amplification Mix** (bouchon jaune)
 - 5 µl Taq DNA Polymerase diluée** (1 U)
 - 5 µl matrice d'ADN**

Remarque : il est recommandé de préparer un Master Mix pour tous les échantillons contenant de l'Amplification Mix et de la Taq DNA Polymerase diluée. Commencer par pipeter 20 µl de Master Mix dans chaque microtube pour PCR, puis ajouter la matrice d'ADN. Inclure un contrôle sans matrice à chaque analyse en utilisant de l'eau de qualité PCR à la place d'ADN (ou de préférence le contrôle négatif de votre extraction d'ADN).

En général, préparer les solutions de travail/le Master Mix avec un volume excédentaire de 10 % pour compenser les inexactitudes de pipetage.

- Boucher les microtubes hermétiquement. Préchauffer le thermocycleur à 94 °C.
- Déposer les microtubes dans le thermocycleur et exécuter le programme suivant :

pré-PCR : 94 °C/2 min

thermocyclage : 94 °C/15 s - 58 °C/30 s - 72 °C/30 s (35 cycles)

élongation terminale : 72 °C/3 min

- Conserver les produits d'amplification sur de la glace ou entre 2 et 8 °C pour utilisation ultérieure.

Facultatif : analyser les produits d'amplification par électrophorèse sur gel (p. ex. 3 % de gel d'agarose).

Longueurs des fragments : 206, 236, 295, 318 bp

3. Traitement des Teststrips

3.1. Hybridation (manuelle) – 1 Teststrip par échantillon (45 °C, bain-marie à agitation)

Important : ajuster le niveau de l'eau du bain-marie à environ la moitié de la hauteur du Typing Tray. Chauffer le bain-marie à 45 °C exactement. Vérifier la température de l'eau avec un thermomètre calibré. Préchauffer l'Hybridization Buffer et la Wash Solution A à 45 °C. Veiller à ce que tous les précipités qui se sont formés entre 2 et 8 °C soient entièrement dissous. Amener les Teststrips, le DNAT, la Conjugate Solution, la Wash Solution B et le Color Developer à température ambiante. Préparer le(s) Typing Tray(s).

Retirer une Teststrip pour chaque échantillon en utilisant des pincettes propres. Les Teststrips ne doivent être manipulés qu'avec des gants non poudrés ! Étiqueter les Teststrips en dehors des lignes de marquage avec un crayon à papier (éviter les crayons-billes, les marqueurs, etc.).

- Pipeter **10 µl de DNAT** (bouchon bleu) dans le coin inférieur de chaque couloir du Typing Trays (un couloir par échantillon).
- Ajouter **10 µl de produit d'amplification** à la goutte de DNAT correspondante.
- Mélanger soigneusement avec une pipette. (La solution reste bleue).
- Laisser reposer **5 min** à température ambiante.
- Ajouter **1 ml d'Hybridization Buffer** (préchauffé à 45 °C) dans chaque couloir. Agiter légèrement la plaque. (La couleur bleue disparaîtra).
- Déposer les **Teststrips**, marquage vers le haut (lignes visibles !), dans les couloirs correspondants. Immerger complètement.
- Incuber pendant **30 min** à **45 °C** sur le plateau d'agitation du bain-marie.

Sélectionner une fréquence d'agitation modérée (env. 50 tr/min) pour éviter tout déversement. Fermer le couvercle du bain-marie pour éviter des variations de la température.

- À la fin de l'incubation, retirer les solutions d'hybridation par aspiration ou pipetage.

Procéder immédiatement. Ne pas laisser les Teststrips s'assécher au cours de la procédure.

3.2. Lavage stringent (45 °C, bain-marie à agitation)

- Ajouter **1 ml de Wash Solution A** (préchauffée à 45 °C). Rincer brièvement (10 s). Retirer les liquides par aspiration ou pipetage.
- Ajouter **1 ml de Wash Solution A** (45 °C).
- Incuber pendant **15 min** à **45 °C** dans le bain-marie à agitation. Retirer les liquides par aspiration ou pipetage.
- Ajouter **1 ml de Wash Solution A** (45 °C).
- Incuber pendant **15 min** à **45 °C** dans le bain-marie à agitation. Retirer les liquides par aspiration ou pipetage.

3.3. Détection colorimétrique (température ambiante : 22 °C ± 3 °C)

- Ajouter **1 ml de Conjugate Solution**.
- Incuber pendant **15 min à température ambiante** sur un agitateur linéaire ou orbital.
Retirer les liquides par aspiration ou pipetage.
- Ajouter **1 ml de Wash Solution B**. Rincer brièvement (10 s).
Retirer les liquides par aspiration ou pipetage.
- Ajouter **1 ml de Wash Solution B**.
- Incuber pendant **5 min à température ambiante** sur un agitateur linéaire ou orbital.
Retirer les liquides par aspiration ou pipetage.
- Ajouter **1 ml de Wash Solution B**.
- Incuber pendant **5 min à température ambiante** sur un agitateur linéaire ou orbital.
Retirer les liquides par aspiration ou pipetage.
- Ajouter **1 ml de Color Developer**.
- Incuber pendant **15 min à température ambiante** dans l'obscurité sur un agitateur linéaire ou orbital.
Une coloration violette apparaît en cas de réaction positive.
- Laver les Teststrips plusieurs fois avec de l'eau distillée.
Les laisser sécher dans l'obscurité sur du papier absorbant.

Ne pas exposer les Teststrips à la lumière vive après la coloration.

3.4. Hybridation (automatisée) - facultative, à la place du bain-marie et de l'agitateur

L'instrument destiné au traitement automatisé des Teststrips doit remplir les critères suivants :

- Température et durée programmables conformément aux étapes 3.1 à 3.3 de la procédure de test StripAssay®.
- Station de préchauffage intégrée pour le Hybridization Buffer et la Wash Solution A.
- Maintien de la température des plaques à 45 °C ± 1 °C pendant les étapes d'hybridation et de lavage stringent.
- Système de refroidissement actif pour la plaque permettant une baisse rapide de la température en vue des étapes de détection colorimétrique à température ambiante.
- Fonction d'agitation pour la plaque.
- Couvercle chauffant pour la plaque afin d'éviter l'évaporation des réactifs pendant l'incubation.
- Distribution de volumes de réactifs définis.
- Aspiration des réactifs.
- Des réactifs supplémentaires peuvent être nécessaires selon l'instrument utilisé et le nombre d'échantillons traités lors d'une analyse. Des StripAssay® Detection Reagents pour la réalisation de 20 tests (REF CS-012) et 48 tests (REF CS-017) sont vendus séparément.

VII. INTERPRÉTATION DES RÉSULTATS

Le génotype d'un échantillon est déterminé en utilisant la Collector™ Sheet fournie. Placer la Teststrip traitée dans l'un des champs correspondants, l'aligner sur le schéma à l'aide de la ligne rouge (en haut) et de la ligne verte (en bas) et la fixer avec du ruban adhésif.

Une réaction positive sur la ligne de contrôle la plus haute indique que la Conjugate Solution et le Color Developer ont eu l'effet escompté. Cette ligne doit toujours avoir une coloration positive.

Pour chaque position polymorphique, l'un des motifs de coloration suivants (Fig. 2) doit être obtenu :

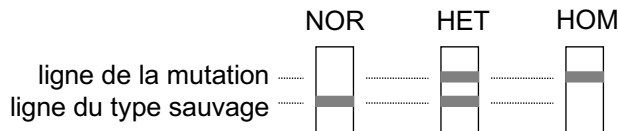


Fig. 2 : Génotypes - motifs de coloration sur la Teststrip

	ligne du type sauvage	ligne de la mutation	génotype
NOR	positive	négative	normal
HET	positive	positive	hétérozygote
HOM	négative	positive	mutation homozygote

Remarque : la coloration des lignes positives peut varier en intensité. Cela n'influe pas sur le résultat.

Se reporter à la page 18 (Fig. 3) pour **voir des exemples** de résultats du test StripAssay®.

Certaines des mutations couvertes par le FMF StripAssay® se situent à quelques nucléotides du gène *MEFV*. Sur les Teststrips, celles-ci sont représentées par une sonde commune de type sauvage, de sorte que les 12 mutations ne sont couvertes que par 8 sondes de type sauvage :

ligne	sonde de type sauvage	mutation
13	codon 148	E148Q
14	codon 369	P369S
15	codon 479	F479L
16	codon 680	M680I (G/C), M680I (G/A)
17	codon 692-695	I692del, M694V, M694I, K695R
18	codon 726	V726A
19	codon 744	A744S
20	codon 761	R761H

Les échantillons présentant une hétérozygotie composite pour deux de ces mutations (par exemple M694V + M694I, M694V + K695R) ne seront pas accompagnés du signal commun de type sauvage (voir exemples I et J, page 18).

Comme avec tout test de diagnostic, les résultats du test FMF StripAssay® doivent être interprétés en tenant compte du phénotype clinique général du patient et sur la base des autres investigations médicales à la disposition du médecin. ViennaLab Diagnostics GmbH n'est pas responsable des décisions cliniques qui sont prises.

VIII. ÉVALUATION DES PERFORMANCES

L'**exactitude** du test FMF StripAssay® a été déterminée en analysant 173 échantillons d'ADN génomique préalablement génotypés. Les résultats obtenus étaient parfaitement concordants avec les méthodes de référence utilisées : séquençage Sanger, électrophorèse sur gel en gradient dénaturant (DGGE, denaturing gradient gel electrophoresis) et polymorphisme de longueur des fragments de restriction (RFLP, restriction fragment length polymorphism). Le test a correctement détecté 251 allèles mutants (taux de concordance positive de 100 %) et 103 allèles de type sauvage (taux de concordance négative de 100 %).

La **précision** du FMF StripAssay® a été évaluée en mesurant la variabilité entre les réplicats, les opérateurs, les jours, les lots de réactifs, les thermocycleurs et les dispositifs d'hybridation utilisés (hybridation manuelle et semi-automatique). Sur un total de 106 tests reproduits selon les paramètres étudiés, tous ont montré les résultats de génotypage attendus. Seules des différences négligeables dans l'intensité de la coloration des teststrips sont apparues, et aucune coloration de fond n'a été observée. Le test FMF StripAssay® a été validé sur l'AB GeneAmp® PCR System 2700, l'AB GeneAmp® PCR System 9700, l'AB Veriti et le MJ Research PTC-200, ce qui correspond à des vitesses de chauffage et de refroidissement comprises entre 1,7 et 4,2 °C/s et 1,4 et 3,7 °C/s, respectivement.

L'utilisation d'autres thermocycleurs requiert une vérification.

La **spécificité analytique** est assurée en premier lieu par la sélection des amorces spécifiques d'un gène et des sondes de capture spécifiques d'un allèle, ainsi que par des conditions de réaction stringentes. Les amorces et les sondes ont été vérifiées par analyse comparative de séquences pour déceler les homologues possibles avec toutes les séquences publiées dans les bases de données génétiques. Cela a permis de garantir la détectabilité de tous les génotypes recherchés. La réactivité croisée potentielle entre les sondes de capture a été vérifiée par l'hébergement du fragment de gène correspondant sur l'ADN synthétique. Aucune réactivité croisée n'a été observée.

Performances cliniques : les performances cliniques du FMF StripAssay® ont été évaluées en vue d'étayer les preuves cliniques par un examen systématique des données disponibles et des éléments pertinents. La recherche documentaire a permis d'identifier 22 publications portant sur la sécurité et les performances des tests FMF StripAssay®, ce qui démontre l'utilité clinique du test. Aucun événement indésirable ni écart défavorable n'ont été identifiés dans les études de comparaison méthodologique. En résumé, les performances cliniques, les bénéfices et la sécurité du FMF StripAssay® sont avérés lorsque le dispositif est utilisé selon l'usage prévu, pour diagnostiquer la fièvre méditerranéenne familiale.

IX. SUBSTANCES INTERFÉRENTES

Cinq substances interférentes (hémoglobine, immunoglobuline G, traces de sang, éthanol et EDTA) potentiellement présentes dans les préparations d'ADN dérivées d'échantillons sanguins sur EDTA ont été testées. Leurs effets sur la PCR ont été évalués sur trois échantillons d'ADN purifiés additionnés de ces substances en concentrations diverses et comparés à leurs contrôles sans ajout de substances interférentes. Tous les échantillons ont été analysés à trois reprises.

Des concentrations finales < 10 µM d'hémoglobine, de 0,1 µM d'immunoglobuline G, < 1 % de sang périphérique, de 1,25 % d'éthanol ou de 0,1 mM d'EDTA dans la réaction n'ont pas interféré avec les performances du StripAssay®.

X. LIMITES DU TEST

Le FMF StripAssay® est exclusivement conçu pour la détection des 12 mutations connues énumérées dans la rubrique III, lesquelles sont représentées par des sondes de capture spécifiques à l'allèle sur les teststrips. Les autres mutations du gène *MEFV* potentiellement présentes dans un échantillon patient ne peuvent pas être détectées.

Les variants rares ou privés situés au niveau des sites de liaison des amorces et des sondes peuvent entraîner un échec de l'amplification et l'absence de certains signaux sur les teststrips.

Dans certains cas, les échantillons d'ADN obtenus par des méthodes autres que le protocole et les réactifs fournis avec le FMF StripAssay® peuvent présenter des signaux faibles ou nuls pour le type sauvage et mutant E148Q. Ce phénomène est dû à une dégradation de l'efficacité de la PCR pour ce fragment spécifique et a été observé avec plusieurs trousse d'extraction d'ADN courantes. Il est possible de rétablir intégralement l'efficacité de la PCR en préchauffant les échantillons d'ADN à 98 °C pendant 10 minutes, puis en les refroidissant immédiatement sur de la glace ou dans un bloc de froid avant de procéder à l'analyse PCR.

Le FMF StripAssay® est conçu pour une utilisation professionnelle en laboratoire uniquement.

XI. CONSIDÉRATIONS RELATIVES À LA QUALITÉ

- Une parfaite compréhension de la procédure décrite ici, ainsi que des techniques de laboratoire standard et de l'équipement approprié à utiliser est nécessaire pour obtenir des résultats fiables.
- Ne pas utiliser les trousse StripAssay® au-delà de leur date de péremption.
- Après ouverture du contenant principal, les réactifs StripAssay® sont stables jusqu'à la date de péremption imprimée sur l'étiquette extérieure de la trousse lorsqu'ils sont conservés de manière appropriée entre 2 et 8 °C.
- Utiliser des embouts de pipette jetables stériles munis de filtres pour éviter toute contamination microbienne et contamination croisée des réactifs ou des échantillons. Ne pas permuter les bouchons des flacons.
- Usage unique.

XII. SÉCURITÉ

- Ne pas boire, manger, fumer ou utiliser des cosmétiques dans les zones de travail réservées. Porter une blouse de laboratoire et des gants jetables lors de la manipulation des échantillons et des réactifs de la trousse. Se laver soigneusement les mains une fois la procédure terminée.
- Manipuler les échantillons comme s'ils pouvaient potentiellement transmettre des agents infectieux. Nettoyer et désinfecter soigneusement tous les matériels et toutes les surfaces qui ont été en contact avec les échantillons. Éliminer tous les déchets associés aux échantillons cliniques dans un récipient pour déchets biologiques dangereux.
- Éviter le contact du DNAT et du Color Developer avec la peau, les yeux ou les muqueuses. En cas de contact, laver abondamment à l'eau immédiatement. En cas de déversement, diluer avec de l'eau avant d'essuyer et de sécher.
- Respecter toutes les réglementations locales et fédérales applicables en matière de sécurité et de protection de l'environnement.

XIII. ASSISTANCE TECHNIQUE

Pour obtenir une assistance technique :

- S'adresser au distributeur local de ViennaLab Diagnostics (www.viennalab.com/distribution).
- Visionner les didacticiels vidéo (www.viennalab.com/support).
- Consulter le manuel du StripAssay® (www.viennalab.com/support).
- Consulter le guide de dépannage du StripAssay® (www.viennalab.com/support).
- Contacter techhelp@viennalab.com.












XIV. RÉFÉRENCES

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

XV. SIGNALEMENT AU FABRICANT

Tout incident grave survenant en lien avec le StripAssay® doit être signalé aux autorités compétentes du pays et au fabricant.

XVI. SYMBOLES

	Numéro de catalogue
	Numéro de lot
	Dispositif médical de diagnostic <i>in vitro</i>
	Conforme à la réglementation européenne relative aux DMDIV 2017/746
0123	Numéro d'identification de l'organisme notifié
	Réalisation de <n> tests
	Limites de température de conservation
	Date de péremption
	Mise en garde
	Fabricant
	Date de fabrication
	Consulter la notice d'utilisation

XVII. EXEMPLES DE RÉSULTATS DE TEST

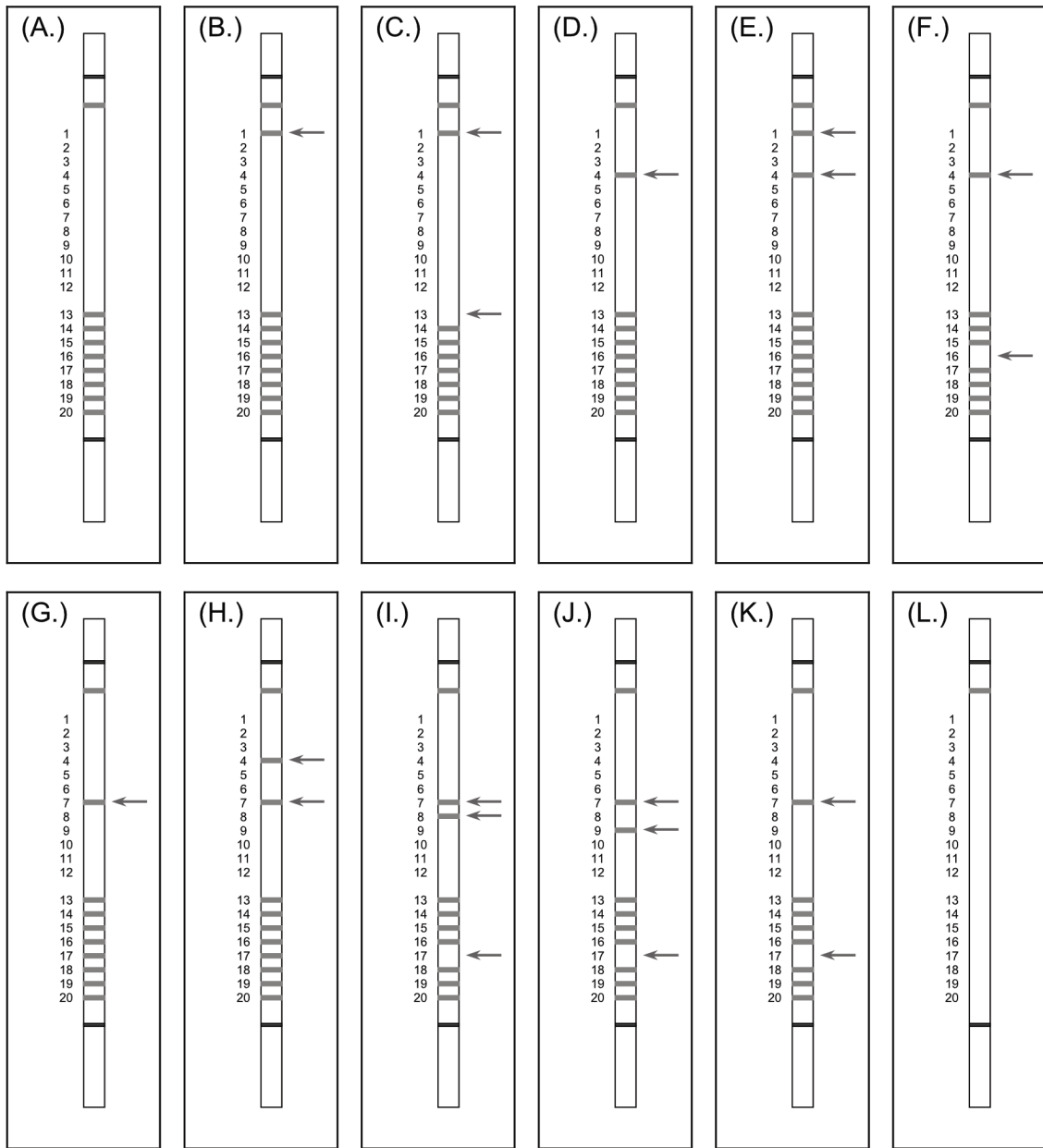



Fig. 3 : Exemples de résultats obtenus avec le FMF StripAssay®

- | | |
|---------------------------------------|--|
| (A.) normal | (G.) M694V hétérozygote |
| (B.) E148Q hétérozygote | (H.) M680I (G/C) - M694V hétérozygote |
| (C.) E148Q homozygote | (I.) M694V - M694I hétérozygote |
| (D.) M680I (G/C) hétérozygote | (J.) M694V - K695R hétérozygote |
| (E.) E148Q - M680I (G/C) hétérozygote | (K.) M694V homozygote |
| (F.) M680I (G/C) homozygote | (L.) contrôle négatif ou échec de la PCR |

REMARQUES

XVIII. PRODUITS CONNEXES

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

Distributeur :



Fabricant :



ViennaLab Diagnostics GmbH

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

t: +43 1 8120156-0

e: info@viennalab.com

w: www.viennalab.com