

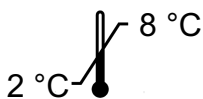
FMF StripAssay[®]

Használati útmutató

REF



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



Verzió: 1.0 / magyar
Az eIFU és a használati útmutató más
nyelveken elérhető a következő oldalon:
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

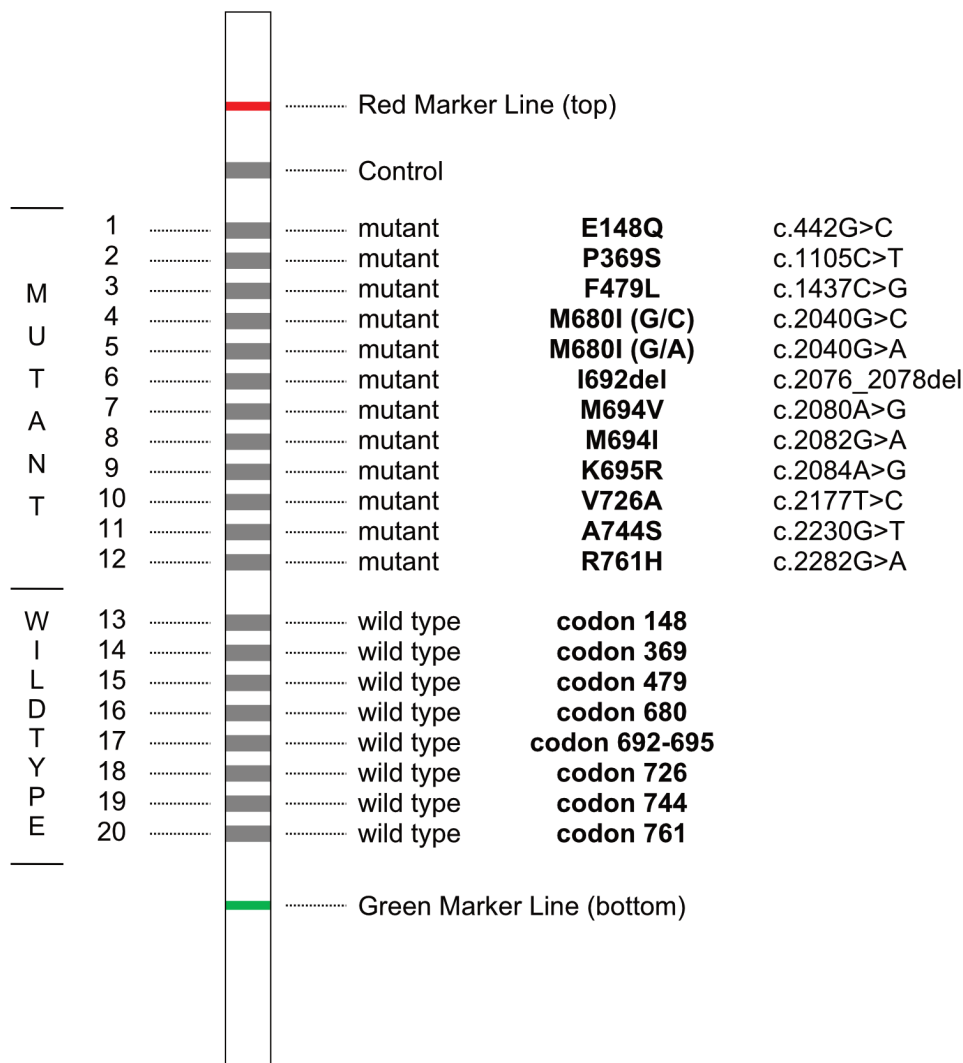
TARTALOMJEGYZÉK

I.	RENDELTETÉS	4
II.	HÁTTÉR	4
III.	MÓDSZEREK.....	4
IV.	A KÉSZLET ÖSSZETEVŐI	6
V.	SZÜKSÉGES, DE NEM BIZTOSÍTOTT ANYAGOK	7
VI.	KIMUTATÁSI ÉS/VAGY MÉRÉSI ELJÁRÁS	8
VII.	AZ EREDMÉNYEK ÉRTELMEZÉSE	12
VIII.	TELJESÍTŐKÉPESSÉG-ÉRTÉKELÉS	14
IX.	ZAVARÓ ANYAGOK.....	14
X.	A VIZSGÁLAT KORLÁTAI	15
XI.	MINŐSÉGI SZEMPONTOK	15
XII.	BIZTONSÁG.....	15
XIII.	TECHNIKAI TÁMOGATÁS.....	16
XIV.	HIVATKOZÁSOK	16
XV.	VISSZAJELZÉS A GYÁRTÓNAK	16
XVI.	SZIMBÓLUMOK.....	17
XVII.	PÉLDÁK A VIZSGÁLATI EREDMÉNYEKRE	18
XVIII.	KAPCSOLÓDÓ TERMÉKEK	20

MÓDOSÍTÁSI ELŐZMÉNYEK:

verzió	dátum	leírás
1.0. verzió	2022-11	Az IVDR-rel kapcsolatos tartalmak hozzáadása a 2022-01 verzióhoz.

A StripAssay® biztonságosságával és teljesítőképességével kapcsolatos összefoglaló (SSP, Summary of Safety and Performance) az orvostechnikai eszközök európai adatbázisában (EUDAMED) található: <https://ec.europa.eu/tools/eudamed> vagy beszerezhető a gyártótól.



EN	HU
mutant	mutáns
wildtype	vad típusú
control	kontroll
red marker line (top)	piros jelölővonal (felül)
green marker line (bottom)	zöld jelölővonal (alul)

1. ábra: Teststrip tesztcsík kialakítása

Megjegyzés: A Teststrip tesztcsíkok nem a valós méretben láthatók, és nem használhatók az eredmények értelmezéséhez!

I. RENDELTETÉS

Az FMF StripAssay® egy kvalitatív genetikai vizsgálat a *MEFV* gén 12 gyakori, veleszületett Familiáris mediterrán lázat (FMF, Familial Mediterranean Fever) okozó mutációjának célzott elemzésére. A vizsgálathoz teljes perifériás vérmintákból kivont genom DNS-t használnak. Az FMF StripAssay® vizsgálatot úgy tervezték, hogy segítse az FMF diagnózist olyan betegeknél, akiknél a klinikai tünetek az FMF-nek megfelelő mintázatot mutatnak, vagy olyan betegek veszélyeztetett rokonainál, akiknél azonosított patogén *MEFV*-mutációt mutattak ki. A StripAssay® manuálisan vagy félautomata rendszerben is elvégezhető.

Humán *in vitro* diagnosztikai felhasználásra.

II. HÁTTÉR

A Familiáris mediterrán láz a leggyakoribb, visszatérő lázas epizódokkal jellemezhető, monogénes autoinflammatorikus betegség, amelyeket hasi (peritonitis), mellkasi (pleuritis) vagy ízületi (arthritis) fájdalom, valamint erysipelas-szerű bőr erythema kísér. Jól ismert, hogy fő hosszú távú szövődménye a szisztémás reaktív (AA) amyloidosis, amely súlyos manifesztációval és rossz prognózissal jár. Az FMF az esetek többségében autoszomális recesszív öröklődési mintázatú, és elsősorban mediterrán vagy közel-keleti populációból származó betegeknél figyelhető meg. A mediterrán láz (*MEFV*) génjének számos variánsát írták le, mint az FMF-et okozó molekuláris defektusokat. Maga az *MEFV* gén a 16p13.3 kromoszómán található, és 10 exont tartalmaz, amelyek egy 781 aminosavból álló, pirin nevű fehérjét kódolnak. Az FMF klinikai megjelenése összetett lehet, ezért a *MEFV*-mutációk genetikai vizsgálata a diagnózis megerősítésének egyik lehetséges módja.

III. MÓDSZEREK

Az FMF StripAssay® polimeráz láncreakción (PCR, polymerase chain reaction) és reverz-hibridizáción alapul. Az eljárás három lépésből áll: (1) DNS-izolálás, (2) PCR-amplifikáció biotinált primerekkel, (3) az amplifikációs termékek hibridizációja egy olyan Teststrip tesztcsíkra, amely allélspecifikus oligonukleotid próbákat tartalmaz, amelyeket párhuzamos vonalakból álló tömbként immobilizáltak (1. ábra). A kötött biotinált szekvenciák sztreptavidin-alkalikus foszfatázzal és színes szubsztrátokkal detektálhatók.

Az FMF StripAssay® az *MEFV* génlókuszban a következő mutációkat mutatja ki:

	eredeti név	HGVS-nómenklatúra		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

Referenciaszekvencia (RefSeq, Reference Sequence):



NM_000243.2

NG_007871.1

A vizsgálatot el lehet végezni manuálisan vagy félautomata módszerrel a Teststrip tesztcsíkok feldolgozásának automatizálására tervezett eszközökkel (lásd: VI. szakasz 3.4 pontja).

IV. A KÉSZLET ÖSSZETEVŐI

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 (sárga kupak)	500 µl	2 x 500 µl	500 µl
4. Taq Dilution Buffer (átlátszó kupak)	500 µl	500 µl	500 µl
5. Taq DNA Polymerase (5 E/µl) (piros kupak)	75 E	125 E	75 E
6. DNAT (kék kupak)	1,5 ml	1,5 ml	1,5 ml
<p> Figyelmeztetés: A DNAT 1,6% NaOH-t tartalmaz H315: Bőrirritáló hatású H319: Súlyos szemirritációt okoz P280: Védőkesztyű/védőruha/szemvédő/arcvédő használata kötelező P337 + P313: Ha a szemirritáció nem múlik el: orvosi ellátást kell kérni</p>			
7. Typing Trays	3	---	1
8. Teststrips	20	2 x 24	5
9. Hybridization Buffer (fehér kupak)	25 ml	65 ml	25 ml
10. Wash Solution A (fehér kupak)	80 ml	200 ml	80 ml
11. Conjugate Solution (átlátszó kupak)	25 ml	65 ml	25 ml
12. Wash Solution B (átlátszó kupak)	80 ml	200 ml	80 ml
13. Color Developer (barna kupak)	25 ml	65 ml	25 ml
<p> Figyelmeztetés: A Color Developer ≤ 0,4% maleinsavat tartalmaz H317: Allergiás bőrreakciót válthat ki P280: Védőkesztyű/védőruha/szemvédő/arcvédő használata kötelező P302 + P352: Ha bőrre kerül: lemosás bő vízzel P333 + P313: Bőrirritáció vagy kiütések megjelenése esetén: orvosi ellátást kell kérni</p>			
14. Használati útmutató	1	1	1
15. Collector™ Sheet	1	3	1

Megjegyzés: Minden reagens 2 °C és 8 °C közötti hőmérsékleten tárolandó, amikor nincs használatban!

az összetevő neve	összetétel
Lysis Solution	KHCO ₃ , NH ₄ Cl, EDTA tartalmú hipotóniás oldat
GENXTRACT™ Resin	Chelex 100 Resin MB puffereelt oldatban
Amplification Mix	szekvencia-specifikus, 5'-biotinnal jelölt oligonukleotidok, dezoxiribonukleotid-trifoszfátok (dATP, dCTP, dGTP és dTTP), ammónium-szulfát puffer, glicerin, 0,05% nátrium-azid, egyenlő arányú keveréke
Taq Dilution Buffer	puffer a Taq DNA Polymerase-hoz, amely KCl-t, (NH ₄) ₂ SO ₄ -ot, MgCl ₂ -ot és 0,05% nátrium-azidot tartalmaz
Taq DNA Polymerase (5 E/µl)	Taq DNA polymerase 5 E/µl koncentrációban
DNAT	1,6%-os nátrium-hidroxidot és kék színezéket tartalmazó bázikus oldat, amely a pH-változást jelzi
Typing Trays	műanyag tálca nyolc lyukkal

az összetevő neve	összetétel
Teststrips	allélspecifikus oligonukleotid próbák és egy hibridizációs kontroll, párhuzamos vonalak tömbjeként immobilizálva egy poliészter hordozós membránon, amelyet felül egy piros, alul egy zöld vonal keretez
Hybridization Buffer	foszfát puffer < 2% detergenssel
Wash Solution A	citrát puffer < 1% detergenssel
Conjugate Solution	0,05%-os nátrium-azidot tartalmazó, sóoldat alapú pufferben hígított, sztreptavidinnel konjugált alkalikus foszfátáz
Wash Solution B	< 2% detergenst és 0,05% nátrium-azidot tartalmazó trisz-puffer
Color Developer	az alkalikus foszfátáz színszubsztrátja nitro-kék-tetrazóliumot (NBT, nitro blue tetrazolium) és 5-bróm-4-klór-3-indolil-foszfátot (BCIP, 5-bromo-4-chloro-3-indolyl phosphate) tartalmaz
Használati útmutató	nyomtatott papír
Collector™ Sheet	nyomtatott papír

V. SZÜKSÉGES, DE NEM BIZTOSÍTOTT ANYAGOK

A szokásos molekuláris biológiai laboratóriumi berendezéseken kívül a következőkre van szükség:

- Termoblokk vagy termomixer 1,5 ml-es reakciócsövekhez, 99 °C-ig szabályozható hőmérséklettel
- Állítható mikrocentrifuga, amely 3000–12 000 fordulat/perc (1000–12 000 × g) sebességre képes
- PCR készülék (thermocycler) fűtött fedéllel (a felfűtési sebességének meghatározásához lásd a VIII. szakaszt)
- Vízfürdő rázóplatformmal, fedéllel és állítható hőmérséklettel (45 °C ± 1 °C)
- Rázógép (billegő vagy orbitális rázó gép)

Opcionális:

- Vákuumos szívókészülék
- Mikrotiterlemez formájú, fedeles, szabályozható hőmérsékletű (45 °C ± 1 °C) száraz inkubátor (thermoshaker), pl. PST-60 HL (Biosan) vagy azzal egyenértékű készülék
- Automatizált hibridizációra szolgáló műszer, amely a VI. szakasz pontjában leírt idő-hőmérséklet profilhoz igazítható, 3.4, pl. DYNABLOT Heat (Dynex) vagy azzal egyenértékű eszköz
- Agarózgél-elektroforézis berendezés (az amplifikációs termékek ellenőrzésére)

VI. KIMUTATÁSI ÉS/VAGY MÉRÉSI ELJÁRÁS

1. Minta előkészítése

Minta: Friss vagy fagyasztott vért használjon EDTA-antikoagulánssal. Heparint vagy citrátot tartalmazó vért nem vizsgáltak. A vért felhasználás előtt ne tárolja 3 napnál tovább szobahőmérsékleten, illetve 1 hétnél tovább 2 °C és 8 °C közötti hőmérsékleten. Az egy évnél hosszabb ideig fagyasztva tárolt vagy háromnál több fagyasztási-olvasztási cikluson átesett vér nem használható fel. A mintavételhez és szállításhoz kövesse az EDTA-vérvételi cső használatára vonatkozó utasításokat és a vérvételre vonatkozó általános ajánlásokat.

DNS-extrakció: Hagyja a vérmintákat szobahőmérsékletre melegedni. A vérvételi csövek többszöri óvatos megfordításával jól keverje össze. Hagyja, hogy a Lysis Solution és a GENXTRACT™ Resin szobahőmérsékletre melegedjen.

- Pipetázzon **100 µl vérmintát** egy 1,5 ml-es, csavaros kupakkal ellátott mikrocsőbe.
- Adjon hozzá **1 ml Lysis Solution-t**, zárja le a csövet, és többször megfordítva keverje össze.
- Hagyja állni **15 percig** szobahőmérsékleten.
- Centrifugálja **5 percig 3 000 fordulat/perc** (kb. 1000 × g) sebességgel egy mikrocentrifugában.
- Távolítsa el és dobja ki a felső (felül lévő) 1 ml felülúszó folyadékot.
- Adjon hozzá **1 ml Lysis Solution-t**, zárja le a csövet, és többször megfordítva keverje össze.
- Centrifugálja **5 percig 12 000 fordulat/perc** (kb. 12000 × g) sebességgel egy mikrocentrifugában.
- Távolítsa el és dobja ki a felülúszót, kivéve kb. 50 µl látható, lágy pelletet.
- A GENXTRACT™ Resin-t a palack alapos megforgatásával reszuszpendálja.
- Adjon **200 µl GENXTRACT™ Resin-t** a pallethez. Zárja le a csövet, és 10 másodpercig vortexelje.

Megjegyzés: A GENXTRACT™ Resin gyorsan leülepedik. Ismételje meg a reszuszpendálást minden alkalommal közvetlenül az újabb alikvot eltávolítása előtt.

- Inkubálja **20 percig 56 °C-on**. Vortexelje 10 másodpercig.
- Inkubálja **10 percig 98 °C-on**. Vortexelje 10 másodpercig.
- Centrifugálja **5 percig 12 000 fordulat/perc** sebességgel egy mikrocentrifugában. Jégen hűtse.

Az így kapott felülúszó tartalmazza a PCR-ben azonnal felhasználható DNS-templátot. A további tároláshoz a felülúszót friss csőbe kell átvinni, és hűtve (2 °C és 8 °C közötti hőmérsékleten legfeljebb egy hétig) vagy -30 °C és -15 °C közötti hőmérsékleten lefagyasztva (hosszú távon) tárolandó.

Más DNS-izolálási módszerek használatát nem validálták az FMF StripAssay® termékkel. Más DNS-extrakciós rendszerek használata esetén a DNS koncentrációjának és tisztaságának a 2–10 ng/µl tartományban kell lennie, illetve az OD_{A260/280} aránynak 1,7–2,0 között kell lennie. A nagyobb DNS-koncentrációkat a PCR-bevitel előtt az ajánlott tartományra kell hígítani.

2. In Vitro amplifikáció (PCR)

Fontos: A PCR-reagenseket és a DNS-templátokat mindvégig hűtve kell tartani.

- Minden alkalommal készítsen frissen megfelelő mennyiségű **Taq DNA Polymerase** (5 E/μl, piros kupak) munkaoldatot **Taq Dilution Buffer**-ben (átlátszó kupak) (1:25, végkoncentráció: 0,2 E/μl) az elemzendő minták számának megfelelő mennyiségű mintával, valamint a **templát nélküli kontrollal** (NTC, no-template control).

összetevő	reakciónként	pl. 10 reakció
Taq DNA Polymerase (5 E/μl)	0,2 μl	2 μl
Taq Dilution Buffer	4,8 μl	48 μl
munkaoldat	5 μl	50 μl

- Készítsen egy reakciócsövet minden egyes amplifikálandó mintához. Helyezze a csöveket jégre.
- Minden mintához készítsen egy végleges PCR-reakciókeveréket jégen:
 - 15 μl Amplification Mix** (sárga kupak)
 - 5 μl hígított Taq DNA Polymerase** (1 E)
 - 5 μl DNS-templát**

Megjegyzés: Minden mintához ajánlott egy törzselegyet készíteni, amely Amplification Mix-et és hígított Taq DNA Polymerase-t tartalmaz. Először pipetázzon 20 μl törzselegyet minden PCR-csőbe, majd adjon hozzá DNS-templátot. Minden egyes futtatásnál futtasson le egy minta nélküli kontrollt is, a DNS helyett PCR minőségű vízzel (vagy lehetőleg a DNS-extrakció negatív kontrolljával).

Általában 10%-os többlet térfogattal készítsen munkaadatokat/törzselegyet a pipetázási pontatlanságok kompenzálására.

- A csöveket szorosan zárja le. Melegítse elő a PCR készüléket (thermocycler) 94°C-ra.
- Helyezze be a reakciócsöveket, és futtassa le a következő PCR (thermocycling) programot:

pre-PCR: 94°C/2 perc

PCR (thermocycling): 94 °C/15 s – 58 °C/30 s – 72 °C/30 s (35 ciklus)

végző hosszabbítás: 72 °C/3 perc

- Az amplifikációs termékeket további felhasználásig jégen vagy 2 °C és 8 °C közötti hőmérsékleten tárolja.

Opcionális: Az amplifikációs termékeket gélelektroforézissel (pl. 3%-os agarózgél) elemezze.

Fragmentum hosszúsága: 206, 236, 295, 318 bp

3. A Teststrip tesztcsíkok feldolgozása

3.1. Hibridizáció (manuális) – 1 Teststrip tesztcsík mintánként (45 °C, rázó vízfürdő)

Fontos: Állítsa a vízfürdő vízszintjét a Typing Tray tálca magasságának kb. feléig. A vízfürdőt pontosan 45 °C-ra melegítse fel. Ellenőrizze a víz hőmérsékletét kalibrált hőmérővel. Melegítse elő a Hybridization Buffer-t és a Wash Solution A-t 45 °C-ra. Ügyeljen arra, hogy a 2 °C és 8 °C közötti hőmérsékleten képződött csapadékok teljesen feloldódjanak. Hagyja, hogy a Teststrip tesztcsíkok, a DNAT, a Conjugate Solution, a Wash Solution B és a Color Developer elérje a szobahőmérsékletet. A Typing Tray tálca/tálcák előkészítése.

Tiszta csipesszel vegyen ki egy-egy Teststrip tesztcsíkot minden egyes mintából. Csak hintőpormentes kesztyűvel érintse meg a Teststrip tesztcsíkokat! A Teststrip tesztcsíkokat a jelölővonalakon kívül ceruzával jelölje meg (golyóstoll, filctoll stb. nem használható).

- Pipetázzon **10 µl DNAT-t** (kék kupak) minden egyes sáv alsó sarkába, amelyet a Typing Trays tálcákban használnak (mintánként egy sáv).
- Adjon **10 µl amplifikációs terméket** a megfelelő csepp DNAT-hoz.
- Pipettával alaposan keverje össze. (Az oldat kék marad.)
- Hagyja állni **5 percig** szobahőmérsékleten.
- Adjon **1 ml** (45 °C-ra előmelegített) **Hybridization Buffer-t** minden egyes sávhoz. Óvatosan keverje a tálcat. (A kék szín eltűnik.)
- Helyezze a **Teststrip** tesztcsíkot a megjelölt oldallal felfelé (a vonaloknak láthatónak kell lenniük!) a megfelelő sávokba. A Teststrip tesztcsíkoknak teljesen el kell merülniük.
- Inkubálja **30 percig 45 °C-on** a vízfürdő rázó platformján.

A kiömlés elkerülése érdekében állítson be mérsékelt rázási gyakoriságot (kb. 50 fordulat/perc). A vízfürdő fedelét tartsa zárva, hogy elkerülje a hőmérséklet ingadozását.

- Az inkubálás végén távolítsa el a hibridizációs oldatokat vákuumszívással vagy pipettázással.

Azonnal folytassa. Az eljárás során ne hagyja, hogy a Teststrip tesztcsíkok kiszáradjanak.

3.2. Szigorú mosás (45 °C, rázó vízfürdő)

- Adjon hozzá **1 ml** (45 °C-ra előmelegített) **Wash Solution A-t**. Rövid ideig öblítse (10 másodperc).
A folyadékokat vákuumos szívással vagy pipettázással távolítsa el.
- Adjon hozzá **1 ml** (45 °C-os) **Wash Solution A-t**.
- Inkubálja **15 percig 45 °C-on** a rázó vízfürdőben.
A folyadékokat vákuumos szívással vagy pipettázással távolítsa el.
- Adjon hozzá **1 ml** (45 °C-os) **Wash Solution A-t**.
- Inkubálja **15 percig 45 °C-on** a rázó vízfürdőben.
A folyadékokat vákuumos szívással vagy pipettázással távolítsa el.

3.3. Kolorimetriás detektálás (szobahőmérsékleten, 22 °C ± 3 °C)

- Adjon hozzá **1 ml Conjugate Solution-t**.
- Inkubálja **15 percig szobahőmérsékleten** billegő vagy orbitális rázógépen. A folyadékokat vákuumos szívással vagy pipettázással távolítsa el.
- Adjon hozzá **1 ml Wash Solution B-t**. Rövid ideig öblítse (10 másodperc). A folyadékokat vákuumos szívással vagy pipettázással távolítsa el.
- Adjon hozzá **1 ml Wash Solution B-t**.
- Inkubálja **5 percig szobahőmérsékleten** billegő vagy orbitális rázógépen. A folyadékokat vákuumos szívással vagy pipettázással távolítsa el.
- Adjon hozzá **1 ml Wash Solution B-t**.
- Inkubálja **5 percig szobahőmérsékleten** billegő vagy orbitális rázógépen. A folyadékokat vákuumos szívással vagy pipettázással távolítsa el.
- Adjon hozzá **1 ml Color Developer-t**.
- Inkubálja **15 percig szobahőmérsékleten sötétben**, billegő vagy orbitális rázógépen. Pozitív reakció esetén lila színeződés jelenik meg.
- A Teststrip tesztcsíkokat többször mossa át desztillált vízzel. Hagyja a csíkokat sötétben, nedvszívó papíron száradni.

A Color Developer alkalmazása után ne tegye ki a Teststrip tesztcsíkokat intenzív fénynek.

3.4. Hibridizáció (automatizált) – opcionális, a vízfürdő és rázógép helyett

A Teststrip tesztcsíkok automatizált feldolgozására szolgáló eszköznek meg kell felelnie a következő követelményeknek:

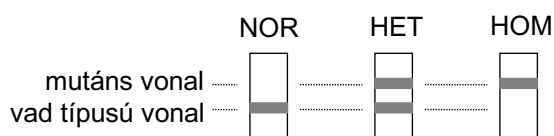
- Programozható hőmérséklet- és időprofil a StripAssay® eljárás 3.1 – 3.3. szakaszai szerint.
- Integrált előmelegítő állomás a Hybridization Buffer és a Wash Solution A számára.
- A tálcák hőmérsékletének szabályozása a 45 °C ± 1 °C hőmérsékletű hibridizációs és a szigorú mosási lépések során.
- A tálca aktív hűtőrendszere, amely biztosítja a gyors hőmérsékletcsökkenést a kolorimetriás detektálási lépésekhez szobahőmérsékleten.
- Rázási képesség a tálcához.
- Fűtött fedél a tálcához, hogy elkerülhető legyen a reagensek elpárolgása az inkubálás során.
- Meghatározott reagensmennyiségek adagolása.
- Reagensek leszívása.
- Az alkalmazott műszertől és az egy menetben feldolgozott minták számától függően további reagensekre lehet szükség. Külön StripAssay® Detection Reagents reagensek állnak rendelkezésre 20 vizsgálathoz (REF CS-012) és 48 vizsgálathoz (REF CS-017).

VII. AZ EREDMÉNYEK ÉRTELMEZÉSE

A minta genotípusának meghatározása a mellékelt Collector™ Sheet segítségével történik. Helyezze a feldolgozott Teststrip tesztcsíkot a kijelölt mezők egyikébe, igazítsa a vázlatos rajzhoz a piros jelölővonal (fent) és a zöld jelölővonal (lent) segítségével, és rögzítse ragasztószalaggal.

A legfelső kontrollvonal pozitív reakciója a Conjugate Solution és a Color Developer megfelelő működését jelzi. Ennek a vonalnak mindig pozitívnak kell lennie.

Minden egyes polimorf pozícióhoz a következő festődési mintázatok egyikét (2) kell megkapni:



2. ábra: Genotípusok – festődési mintázat a Teststrip tesztcsíkon

	vad típusú vonal	mutáns vonal	genotípus
NOR	pozitív	negatív	normál
HET	pozitív	pozitív	heterozigóta
HOM	negatív	pozitív	homozigóta mutáns

Megjegyzés: A pozitív vonalak festődési intenzitása eltérő lehet. Ennek nincs jelentősége az eredmény szempontjából.

A StripAssay® eredményekre vonatkozó **példákat lásd** a 18. oldalon (3. ábra).

Az FMF StripAssay® által lefedett mutációk egy része a *MEFV* gén néhány nukleotidján belül található. A tesztcsíkokon ezeket egy közös vad típusú próba képviseli, így a 12 mutációt mindössze 8 vad típusú próba fedi le:

vonal	vad típusú próba	mutáció
13	148-as kodon	E148Q
14	369-as kodon	P369S
15	479-as kodon	F479L
16	680-as kodon	M680I (G/C), M680I (G/A)
17	692–695-ös kodon	I692del, M694V, M694I, K695R
18	726-os kodon	V726A
19	744-os kodon	A744S
20	761-os kodon	R761H

Azok a minták, amelyek két ilyen mutációra (pl. M694V + M694I, M694V + K695R) összetett heterozigóták, nem rendelkeznek a közös vad típusú jellel (lásd az I. és J. példát, 18. oldal).

Mint minden diagnosztikai vizsgálat esetében, az FMF StripAssay® eredményeit is a beteg általános klinikai fenotípusának és az orvos rendelkezésére álló egyéb orvosi vizsgálatok eredményének összefüggésében kell értelmezni. A ViennaLab Diagnostics GmbH nem vállal felelősséget a meghozott klinikai döntésekért.

VIII. TELJESÍTŐKÉPESSÉG-ÉRTÉKELÉS

Az FMF StripAssay® **pontosságát** 173 előzetesen tipizált genomi DNS-mintát elemezve határozták meg. Az eredmények teljes mértékben megegyeztek a referencia módszerrel (Sanger-szekvenálás, denaturáló gradiens gélelektroforézis (DGGE, denaturing gradient gel electrophoresis) és restrikciós fragmentumhossz polimorfizmus (RFLP, restriction fragment length polymorphism). A vizsgálat 251 mutáns allélt (= 100% pozitív százalékos egyezés) és 103 vad típusú allélt (= 100% negatív százalékos egyezés) mutatott ki helyesen.

Az FMF StripAssay® **precizitását** az ismétlések, kezelők, napok, reagens tételek, PCR készülékek (thermocycler) és hibridizációs eszközök (kézi és félautomata hibridizáció) közötti variabilitásként értékelték. A vizsgált paraméterek mellett elvégzett összesen 106 vizsgálati ismétlés során valamennyi vizsgálat a várt genotipizálási eredményeket mutatta. A Teststrip tesztcsíkok festődési intenzitásában csak elhanyagolható különbségek mutatkoztak, és nem volt megfigyelhető háttérfestődés. Az FMF StripAssay® vizsgálatot az AB GeneAmp® PCR System 2700, az AB GeneAmp® PCR System 9700, az AB Veriti és az MJ Research PTC-200 készülékeken validálták, amelyek 1,7–4,2 °C/másodperc, illetve 1,4–3,7 °C/másodperc közötti fűtési és hűtési sebességet alkalmaznak.

Más PCR készülékek (thermocycler) használatát a felhasználónak kell igazolnia.

Az analitikai specificitást elsősorban a génspecifikus primerek és az allélspecifikus megkötő próbák kiválasztása, valamint a szigorú reakciókörülmények kiválasztása biztosítja. A primereket és próbákat szekvencia-összehasonlító elemzéssel ellenőrizték a génadatbázisokban közzétett összes szekvenciával való lehetséges homológiák tekintetében. Ezáltal biztosították az összes releváns genotípus kimutathatóságát. A megkötő próbák közötti potenciális keresztreaktivitást a megfelelő génfragmentumot tartalmazó szintetikus DNS-sel ellenőrizték. Keresztreaktivitást nem észleltek.

Klinikai teljesítőképesség: Az FMF StripAssays® klinikai teljesítőképességének értékelése a klinikai bizonyítékok alátámasztása érdekében a rendelkezésre álló adatok és az alkalmazandó elemek szisztematikus felülvizsgálatát foglalta magában. A szakirodalom-kutatás eredményeként 22 olyan publikációt találtak, amelyek az FMF StripAssays® biztonságosságával és teljesítőképességével kapcsolatosak, és amelyek az FMF StripAssay® klinikai hasznosságát bizonyítják. A módszer összehasonlító vizsgálata során nem azonosítottak nemkívánatos eseményeket vagy eltéréseket. Összefoglalva, az FMF StripAssay® klinikai teljesítőképessége, előnyei és biztonságossága igazolódott, amikor az eszközt rendeltetésszerűen használják a Familiáris mediterrán láz megerősítő diagnózisára.

IX. ZAVARÓ ANYAGOK

Öt zavaró anyagot (hemoglobin, immunglobulin G, vérnyomok, etanol és EDTA) vizsgáltak, amelyek potenciálisan jelen lehetnek az EDTA-vérből származó DNS-preparátumokban. A PCR-re gyakorolt hatásukat három olyan tisztított DNS-mintában értékelték, amelyekhez különböző koncentrációjú anyagokat adtak hozzá, és ezeket összehasonlították a zavaró anyagok hozzáadása nélküli kontrollokkal. Minden mintát három ismétlésben elemeztek.

A < 10 µM hemoglobin, 0,1 µM immunglobulin G, < 1% perifériás vér, 1,25% etanol vagy 0,1 mM EDTA végkoncentrációja a reakcióban nem zavarta a StripAssay® teljesítőképességét.

X. A VIZSGÁLAT KORLÁTAI

Az FMF StripAssay® kizárólag a III. szakaszban felsorolt 12 gyakori mutáció kimutatására tervezték, amelyeket a Teststrip tesztcsíkokon található allélspecifikus megkötő próbák képviselnek. Egyéb *MEFV*-mutációk, amelyek jelen lehetnek a beteg mintájában, nem mutathatók ki.

A ritka vagy egyedi variánsok a primerek és a próbák kötőhelyein belül az amplifikáció meghiúsulásához és a Teststrip tesztcsíkokon hiányzó jelekhez vezethetnek.

Az FMF StripAssay® vizsgálathoz mellékelt reagensektől és protokolltól eltérő módszerekkel nyert DNS-minták egyes esetekben gyenge vagy hiányzó jeleket mutathatnak a vad típusú és a mutáns E148Q esetében. Ez a hatás a PCR hatékonyságának csökkenése miatt következik be az adott fragmentum esetében, és több népszerű DNS extrakciós készlet esetében is megfigyelhető. Az ilyen DNS-minták 10 perces 98 °C-ra történő előmelegítése, majd a PCR beállítása előtt azonnal jégen vagy hideg blokkban történő lehűtése teljesen helyreállíthatja a normál PCR-eredményt.

Az FMF StripAssay® csak laboratóriumi szakemberek által használható.

XI. MINŐSÉGI SZEMPONTOK

- A megbízható eredmények eléréséhez az itt vázolt eljárás alapos ismerete, valamint a standard laboratóriumi technikák alkalmazása és megfelelő felszerelés szükséges.
- A StripAssay® készleteket ne használja a lejáratú időn túl.
- Az elsődleges tartály első felnyitását követően a StripAssay® reagensek 2 °C és 8 °C közötti hőmérsékleten, megfelelően tárolva a készlet külső címkéjén feltüntetett lejáratú dátumig stabilak.
- A mikrobiális szennyeződés és a reagensek vagy minták keresztszennyeződésének elkerülése érdekében használjon steril, eldobható, szűrővel ellátott pipettahegyeket. Ne cserélje fel a palackok kupakjait.
- Kizárólag egyszeri használatra.

XII. BIZTONSÁG

- A kijelölt munkaterületeken ne igyon, ne egyen, ne dohányozzon, és ne használjon kozmetikumokat. A minták és a készlet reagenseinek kezeléséhez viseljen laboratóriumi köpenyt és eldobható kesztyűt. Utána alaposan mosson kezet.
- A mintákat úgy kezelje, mintha fertőző ágensek átvitelére alkalmasak lennének. Alaposan tisztítsa meg és fertőtlenítsen minden olyan anyagot és felületet, amely érintkezett a mintákkal. A klinikai mintákkal összefüggő összes hulladékot dobja ki a biológiai hulladékgyűjtő edénybe.
- Kerülje a DNAT és a Color Developer bőrrel, szemmel vagy nyálkahártyával való érintkezését. Ha mégis érintkezésbe kerül, azonnal mossa le bő vízzel. Ha kiömlött, vízzel hígítsa fel, mielőtt szárazra törölné.
- Tartsa be az összes helyi és szövetségi biztonsági és környezetvédelmi előírást.

XIII. TECHNIKAI TÁMOGATÁS

A technikai támogatás a következő címen érhető el:

- a ViennaLab Diagnostics helyi forgalmazója (www.viennalab.com/distribution)
- Oktatóvideók (www.viennalab.com/support)
- StripAssay® kézikönyv (www.viennalab.com/support)
- StripAssay® hibaelhárítási útmutató (www.viennalab.com/support)
- kapcsolatfelvétel a techhelp@viennalab.com címen












XIV. HIVATKOZÁSOK

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

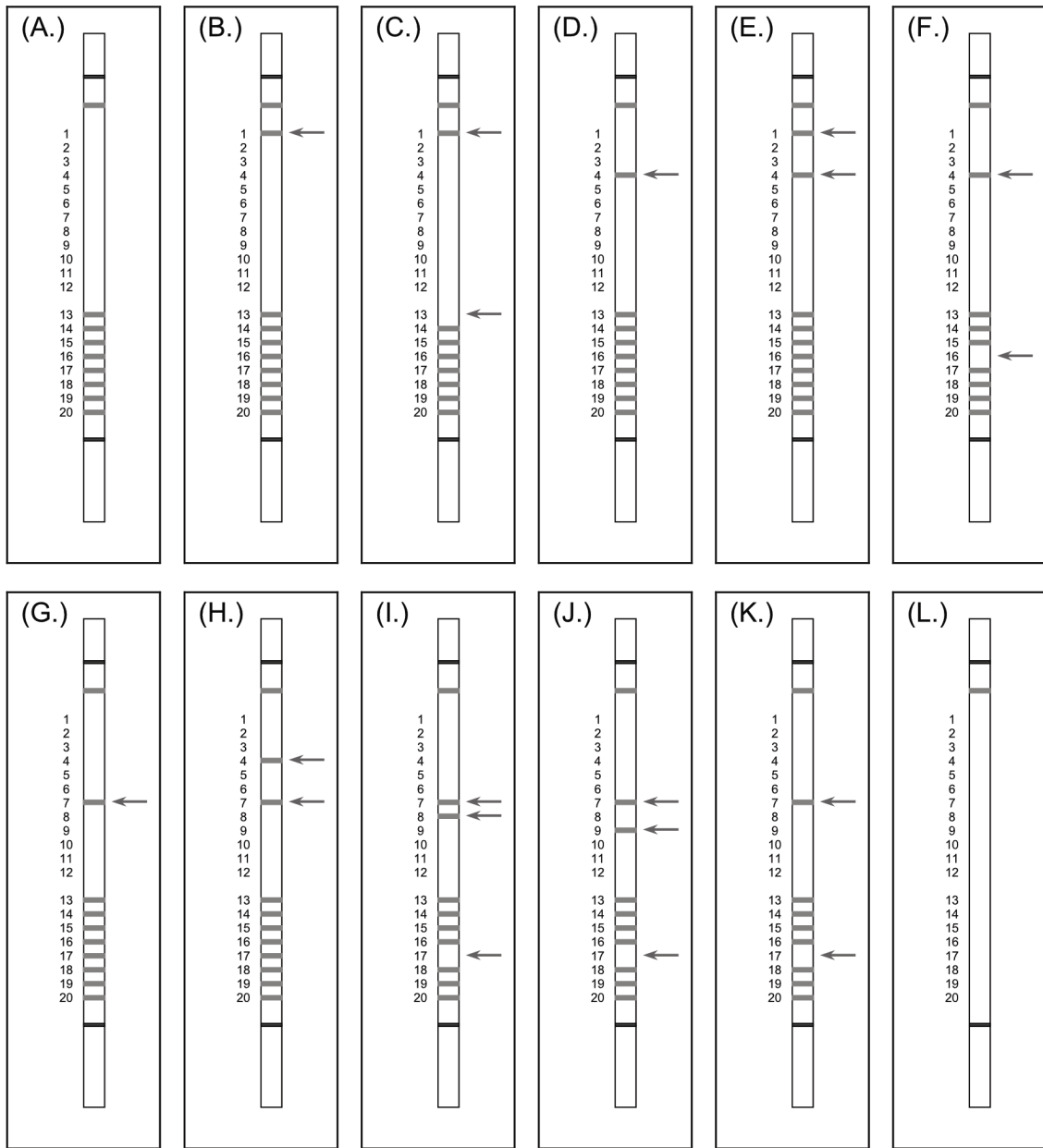
XV. VISSZAJELZÉS A GYÁRTÓNAK

A StripAssay® termékkel kapcsolatban bekövetkezett minden súlyos váratlan eseményt jelenteni kell az ország illetékes hatóságának és a gyártónak.

XVI. SZIMBÓLUMOK

	Katalógusszám
	Tételkód
	<i>In vitro</i> diagnosztikai orvostechnikai eszköz
	Megfelel a 2017/746 európai IVD-rendeletnek A bejelentett szervezet azonosító száma
	<n> vizsgálathoz elegendő
	Tárolási hőmérsékleti határértékek
	Lejárati idő
	Vigyázat
	Gyártó
	A gyártás dátuma
	Olvassa el a használati útmutatót

XVII. PÉLDÁK A VIZSGÁLATI EREDMÉNYEKRE




3. ábra: Példák az FMF StripAssay® vizsgálattal kapott eredményekre

- | | |
|---------------------------------------|---------------------------------------|
| (A.) normális | (G.) M694V heterozigóta |
| (B.) E148Q heterozigóta | (H.) M680I (G/C) - M694V heterozigóta |
| (C.) E148Q homozigóta | (I.) M694V - M694I heterozigóta |
| (D.) M680I (G/C) heterozigóta | (J.) M694V - K695R heterozigóta |
| (E.) E148Q - M680I (G/C) heterozigóta | (K.) M694V homozigóta |
| (F.) M680I (G/C) homozigóta | (L.) negatív kontroll vagy PCR-hiba |

MEGJEGYZÉSEK

XVIII. KAPCSOLÓDÓ TERMÉKEK

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

Forgalmazó:

 **Gyártó:**

 **ViennaLab®**

ViennaLab Diagnostics GmbH

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

t: +43 1 8120156-0

e: info@viennalab.com

w: www.viennalab.com