

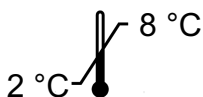
FMF StripAssay[®]

Gebruiksaanwijzing

REF



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



Versie: rev 1.0 / Nederlands
eIFU en andere talen beschikbaar op
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

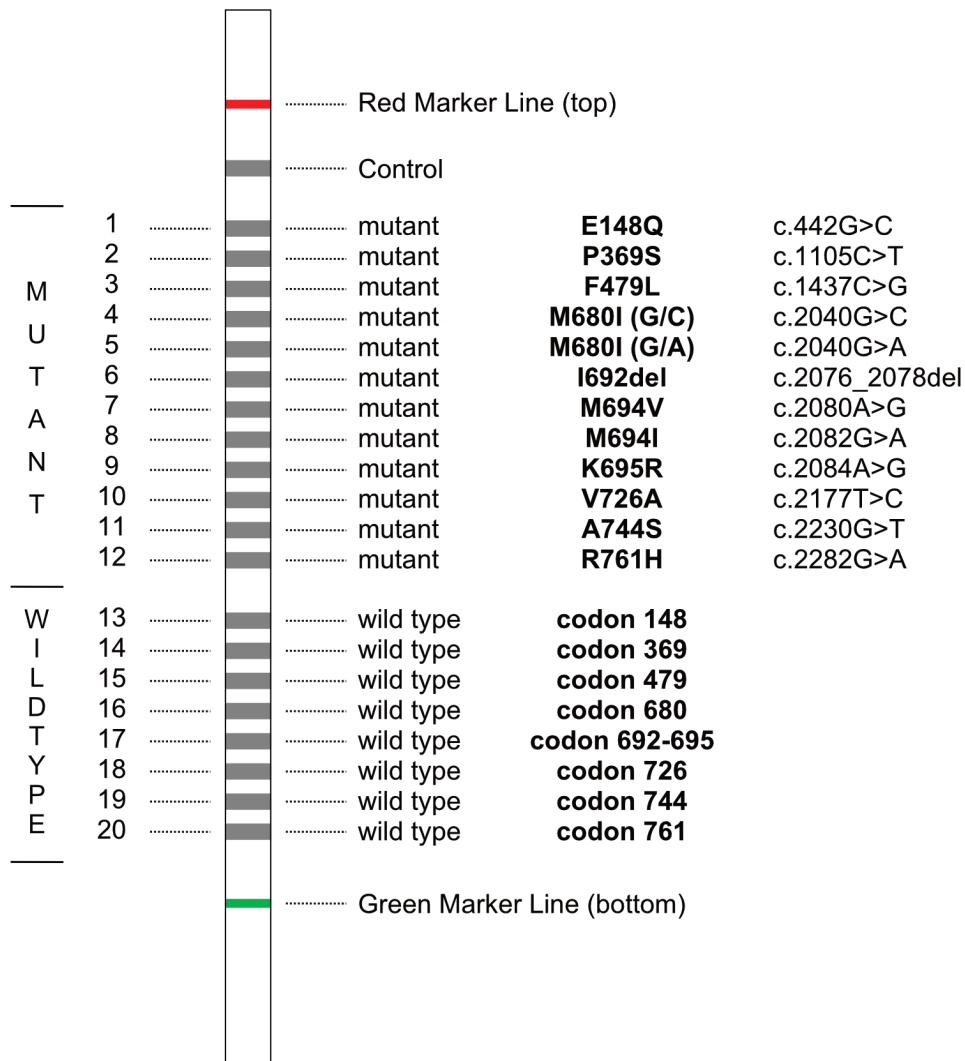
INHOUD

I.	BEOOGD DOEL	4
II.	ACHTERGROND	4
III.	METHODOLOGIE	4
IV.	KITONDERDELEN	6
V.	BENODIGDE MATERIALEN, MAAR NIET MEEGELEVERD	7
VI.	TESTPROCEDURE	8
VII.	INTERPRETATIE VAN RESULTATEN	12
VIII.	PRESTATIE-EVALUATIE	14
IX.	INTERFERERENDE STOFFEN.....	14
X.	BEPERKINGEN VAN DE ASSAY	15
XI.	KWALITEITSOVERWEGINGEN	15
XII.	VEILIGHEID	15
XIII.	TECHNISCHE ONDERSTEUNING	16
XIV.	REFERENTIES	16
XV.	FEEDBACK AAN DE FABRIKANT	16
XVI.	SYMBOLLEN	17
XVII.	VOORBEELDEN VAN TESTRESULTATEN.....	18
XVIII.	AANVERWANTE PRODUCTEN.....	20

REVISIEGESCHIEDENIS:

versie	datum	beschrijving
rev 1.0	2022-11	Toevoeging van IVDR-gerelateerde inhoud aan versie 2022-01.

Samenvatting van de veiligheid en prestaties (SSP, summary of safety and performance) van de StripAssay® kan worden opgevraagd via de European Database on Medical Devices (EUDAMED): <https://ec.europa.eu/tools/eudamed> of bij de fabrikant.



EN	NL
mutant	gemuteerd
wildtype	wildtype
control	controle
red marker line (top)	rode markeringslijn (boven)
green marker line (bottom)	groene markeringslijn (onder)

Afb. 1: Ontwerp Teststrips

Opmerking: Teststrips zijn niet op ware grootte getekend en mogen niet worden gebruikt voor het interpreteren van resultaten!

I. BEOOGD DOEL

De FMF StripAssay® is een kwalitatieve genetische test voor de gerichte analyse van 12 frequente mutaties in het *MEFV*-gen die in verband worden gebracht met Familiaire Mediterrane Koorts (FMF, Familial Mediterranean fever). Voor het testen wordt genomisch DNA gebruikt dat geëxtraheerd is uit monsters van volledig perifeer bloed. De FMF StripAssay® is ontworpen als hulpmiddel voor de diagnose van FMF bij patiënten met een klinisch symptoompatroon dat overeenkomt met FMF, of risicofamilieleden van een patiënt met een geïdentificeerde pathogene *MEFV*-mutatie. De StripAssay® kan handmatig of halfautomatisch worden uitgevoerd.

Voor humaan *in vitro* diagnostisch gebruik.

II. ACHTERGROND

Familiaire Mediterrane Koorts is de meest voorkomende monogene auto-inflammatoire aandoening. Het wordt gekenmerkt door terugkerende koortsaanvallen, gepaard met pijn in de buik (peritonitis), borst (pleuritis) of gewrichten (arthritis) en erysipelas-achtig huiderytheem. Het is bekend dat systemische reactieve amyloïdose (AA) de belangrijkste complicatie op de lange termijn is, met een ernstige manifestatie en een slechte prognose. FMF kent in de meeste gevallen een autosomaal recessief overervingspatroon en wordt voornamelijk waargenomen bij patiënten uit de bevolking van het Middellandse Zeegebied of het Midden-Oosten. Er zijn talloze varianten binnen het gen voor mediterrane koorts (*MEFV*, Mediterranean fever) beschreven als de moleculaire defecten die FMF veroorzaken. Het *MEFV*-gen zelf bevindt zich op chromosoom 16p13.3 en bestaat uit 10 exonen, die coderen voor een eiwit van 781 aminozuren dat bekend staat als pyrine. De klinische weergave van FMF kan complex zijn, daarom is genetisch testen op *MEFV*-mutaties een haalbare manier om de diagnose te bevestigen.

III. METHODOLOGIE

De FMF StripAssay® is gebaseerd op polymerasekettingreactie (PCR, polymerase chain reaction) en omgekeerde hybridisatie. De procedure bestaat uit drie stappen: (1) DNA-isolatie, (2) PCR-amplificatie met behulp van gebiotinyleerde primers, (3) hybridisatie van amplificatieproducten op een Teststrip met allelspecifieke oligonucleotideprobes, geïmmobiliseerd als een reeks parallelle lijnen (Afb. 1). Gebonden gebiotinyleerde sequenties worden gedetecteerd met streptavidine-alkalische fosfatase en kleursubstraten.

De FMF StripAssay® detecteert de volgende mutaties in de *MEFV*-genlocus:

	naam legacy	HGVS-nomenclatuur		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

Referentiesequentie (RefSeq, Reference Sequence):



NM_000243.2

NG_007871.1

De test kan handmatig of halfautomatisch worden uitgevoerd met instrumenten die zijn ontworpen voor automatisering van de verwerking van Teststrips (zie hoofdstuk VI. 3.4).

IV. KITONDERDELEN

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>gele dop</i>)	500 µl	2 x 500 µl	500 µl
4. Taq Dilution Buffer (<i>transparante dop</i>)	500 µl	500 µl	500 µl
5. Taq DNA Polymerase (5 E/µl) (<i>rode dop</i>)	75 E	125 E	75 E
6. DNAT (<i>blauwe dop</i>)	1,5 ml	1,5 ml	1,5 ml
<p> Waarschuwing: DNAT bevat 1,6% NaOH H315: Veroorzaakt huidirritatie H319: Veroorzaakt ernstige oogirritatie P280: Draag beschermende handschoenen/beschermende kleding/oogbescherming/gelaatsbescherming P337 + P313: Als oogirritatie aanhoudt: zoek medisch advies/zorg</p>			
7. Typing Trays	3	---	1
8. Teststrips	20	2 x 24	5
9. Hybridization Buffer (<i>witte dop</i>)	25 ml	65 ml	25 ml
10. Wash Solution A (<i>witte dop</i>)	80 ml	200 ml	80 ml
11. Conjugate Solution (<i>transparante dop</i>)	25 ml	65 ml	25 ml
12. Wash Solution B (<i>transparante dop</i>)	80 ml	200 ml	80 ml
13. Color Developer (<i>bruine dop</i>)	25 ml	65 ml	25 ml
<p> Waarschuwing: Color Developer bevat ≤0,4% maleïnezuur H317: Kan een allergische huidreactie veroorzaken P280: Draag beschermende handschoenen/beschermende kleding/oogbescherming/gelaatsbescherming P302 + P352: Indien op de huid: wassen met veel water P333 + P313: Indien huidirritatie of huiduitslag optreedt: zoek medisch advies/hulp</p>			
14. Gebruiksaanwijzing	1	1	1
15. Collector™ Sheet	1	3	1

Opmerking: Bewaar alle reagentia bij 2 °C tot 8 °C wanneer u ze niet gebruikt!

naam van component	samenstelling
Lysis Solution	hypotone oplossing met KHCO ₃ , NH ₄ Cl, EDTA
GENXTRACT™ Resin	Chelex 100 Resin MB in een gebufferde oplossing
Amplification Mix	sequentiespecifieke 5'-biotine-gelabelde oligonucleotiden, een equimolair mengsel van deoxyribonucleotidtrifosfaten (dATP, dCTP, dGTP en dTTP), ammoniumsulfaatbuffer, glycerol, 0,05% natriumazide
Taq Dilution Buffer	buffer voor Taq DNA-polymerase, inclusief (NH ₄) ₂ SO ₄ en MgCl ₂ , 0,05% natriumazide
Taq DNA Polymerase (5 E/µl)	Taq DNA Polymerase in een concentratie van 5 E/µl
DNAT	basische oplossing met 1,6% natriumhydroxide en een blauwe kleurstof die een verandering van pH aangeeft
Typing Trays	plastic tray met acht wells

naam van component	samenstelling
Teststrips	allelspecifieke oligonucleotideprobes en een hybridisatiecontrole geïmmobiliseerd als een reeks parallelle lijnen op een door polyester ondersteund membraan, omlijst door een rode lijn aan de bovenkant en een groene lijn aan de onderkant
Hybridization Buffer	fosfaatbuffer met <2% detergens
Wash Solution A	citraatbuffer met <1% detergens
Conjugate Solution	streptavidine geconjugeerde alkalische fosfatase, verdund in een buffer op basis van zoutoplossing met 0,05% natriumazide
Wash Solution B	trisbuffer met <2% detergens en 0,05% natriumazide
Color Developer	kleursubstraat voor de alkalische fosfatase bevat nitroblauwtetrazolium (NBT, nitro blue tetrazolium) en 5-broom-4-chloor-3-indolyfosfaat (BCIP, 5-bromo-4-chloro-3-indolyl phosphate)
Gebruiksaanwijzing	bedrukt papier
Collector™ Sheet	bedrukt papier

V. BENODIGDE MATERIALEN, MAAR NIET MEEGELEVERD

Naast de standaard laboratoriumapparatuur voor moleculaire biologie is het volgende nodig:

- Thermoblok of thermomixer voor reageerbuizen van 1,5 ml met temperatuurregeling tot 99 °C
- Instelbare microcentrifuge geschikt voor 3.000-12.000 tpm (1.000-12.000 x g)
- Thermocycler met verwarmd deksel (voor specificatie van afregelsnelheid, zie hoofdstuk VIII)
- Waterbad met schudplatform, deksel en instelbare temperatuur (45 °C ± 1 °C)
- Schudapparaat (rocker of rondschudapparaat)

Optioneel:

- Vacuüm afzuigapparaat
- Thermoshaker voor microtiterplaatformaat met deksel en instelbare temperatuur (45 °C ± 1 °C), bijv. PST-60 HL (Biosan) of gelijkwaardig apparaat
- Instrument voor geautomatiseerde hybridisatie, instelbaar op het tijd-temperatuurprofiel zoals beschreven in hoofdstuk VI. 3.4, bijv. DYNABLOT Heat (Dynex) of een gelijkwaardig apparaat
- Apparatuur voor agarosegel-elektroforese (voor controle van amplificatieproducten)

VI. TESTPROCEDURE

1. Monstervoorbereiding

Monster: Gebruik vers of ingevroren bloed met EDTA-antistollingsmiddel. Bloed met heparine of citraat is niet getest. Bewaar bloed vóór gebruik niet langer dan 3 dagen bij kamertemperatuur of langer dan 1 week bij 2 °C tot 8 °C. Bloed dat langer dan een jaar ingevroren is geweest of meer dan drie vries-dooicycli heeft doorlopen mag niet worden gebruikt. Voor monsterafname en transport volgt u de gebruiksaanwijzingen van het EDTA-bloedafnamebuisje en de algemene aanbevelingen voor bloedafname.

DNA-extractie: Breng de bloedmonsters op kamertemperatuur. Meng goed door de bloedafnamebuisjes enkele keren voorzichtig om te keren. Laat Lysis Solution en GENXTRACT™ Resin op kamertemperatuur komen.

- Pipetteer **100 µl bloedmonster** in een microbuisje van 1,5 ml met schroefdop.
- Voeg **1 ml Lysis Solution** toe, sluit het busje en meng door meerdere keren om te keren.
- Laat het busje **15 minuten** op kamertemperatuur staan.
- Centrifugeer **5 minuten** bij **3.000 tpm** (ongeveer 1.000 x g) in een microcentrifuge.
- Verwijder het bovenste 1 ml supernatant en gooi het weg.
- Voeg **1 ml Lysis Solution** toe, sluit het busje en meng door meerdere keren om te keren.
- Centrifugeer **5 minuten** bij **12.000 tpm** (ongeveer 12.000 x g) in een microcentrifuge.
- Verwijder het supernatant en gooi het weg, met uitzondering van ongeveer 50 µl van een zichtbare, zachte pellet.
- Resuspendeer GENXTRACT™ Resin door de fles grondig rond te draaien.
- Voeg **200 µl GENXTRACT™ Resin** toe aan de pellet. Sluit het busje en vortex gedurende 10 seconden.

Opmerking: GENXTRACT™ Resin sedimenteert snel. Herhaal de resuspensie elke keer onmiddellijk voordat u een ander aliquot verwijdert.

- Incubeer **20 minuten** op **56 °C**. Vortex 10 seconden.
- Incubeer **10 minuten** op **98 °C**. Vortex 10 seconden.
- Centrifugeer **5 minuten** op **12.000 tpm** in een microcentrifuge. Koel af op ijs.

Het resulterende supernatant bevat een DNA-sjabloon dat geschikt is voor onmiddellijk gebruik in PCR. Voor verdere opslag moet het supernatant worden overgebracht naar een nieuw busje en gekoeld worden bewaard (2 °C tot 8 °C; maximaal één week) of ingevroren bij -30 °C tot -15 °C (voor lange termijn).

Gebruik van andere DNA-isolatiemethoden met de FMF StripAssay® is niet gevalideerd. Als andere DNA-extractiesystemen worden gebruikt, moeten de concentratie en zuiverheid van het DNA binnen een bereik van respectievelijk 2 tot 10 ng/µl en een OD_{A260/280}-verhouding van 1,7 tot 2,0 liggen. Hogere DNA-concentraties moeten vóór de PCR-invoer tot het aanbevolen bereik worden verdund.

2. In vitro amplificatie (PCR)

Belangrijk: Bewaar alle PCR-reagentia en DNA-sjablonen in de koelkast.

- Bereid elke keer vers een passende hoeveelheid werkoplossing (1:25, eindconcentratie 0,2 E/μl) **Taq DNA Polymerase** (5 E/μl, rode dop) in **Taq Dilution Buffer** (transparante dop) voor het aantal te analyseren monsters voor, plus de **controle zonder sjabloon** (NTC, no-template control).

component	per reactie	bijv. 10 reacties
Taq DNA Polymerase (5 E/μl)	0,2 μl	2 μl
Taq Dilution Buffer	4,8 μl	48 μl
werkende oplossing	5 μl	50 μl

- Bereid voor elk monster dat moet worden geamplificeerd één reactiebuisje voor. Plaats de buisjes op ijs.
- Bereid voor elk monster een uiteindelijk PCR-reactiemengsel op ijs voor:
 - 15 μl Amplification Mix** (gele dop)
 - 5 μl verdund Taq DNA Polymerase** (1 E)
 - 5 μl DNA-sjabloon**

Opmerking: Het wordt aanbevolen om voor alle monsters een mastermix te bereiden die Amplification Mix en verdund Taq DNA Polymerase bevat. Pipetteer eerst 20 μl mastermix in elk PCR-buisje en voeg dan DNA-sjabloon toe. Voeg in elke run een controle zonder sjabloon toe door water van PCR-kwaliteit te gebruiken in plaats van DNA (of bij voorkeur de negatieve controle van uw DNA-extractie).

Bereid in het algemeen werkoplossingen/mastermix voor met een volumeoverschot van 10% om onnauwkeurigheden bij het pipetteren te compenseren.

- Sluit de buisjes goed af. Verwarm de thermocycler voor op 94 °C.
- Plaats reactiebuisjes en voer het volgende thermocyclingprogramma uit:

pre-PCR: 94°C/2 min.
thermocycling: 94°C/15 sec. - 58°C/30 sec. - 72°C/30 sec. (35 cycli)
definitieve extensie: 72°C/3 min.

- Bewaar amplificatieproducten op ijs of bij 2 °C tot 8 °C voor verder gebruik.

Optioneel: Analyseer amplificatieproducten door gelelektroforese (bijv. 3% agarosegel).

Fragmentlengtes: 206, 236, 295, 318 bp

3. Verwerking van Teststrips

3.1. Hybridisatie (handmatig) – 1 Teststrip per monster (45 °C, schuddend waterbad)

Belangrijk: Stel het waterniveau van het waterbad in op ca. ½ van de hoogte van de Typing Tray. Verwarm het waterbad tot precies 45 °C. Controleer de watertemperatuur met een gekalibreerde thermometer. Verwarm Hybridization Buffer en Wash Solution A voor tot 45 °C. Zorg ervoor dat alle precipitaten die bij 2 °C tot 8 °C zijn gevormd volledig worden opgelost. Laat Teststrips, DNAT, Conjugate Solution, Wash Solution B en Color Developer op kamertemperatuur komen. Bereid Typing Tray(s) voor.

Verwijder voor elk monster één Teststrip met een schoon pincet. Raak Teststrips alleen aan met ongepoederde handschoenen! Label Teststrips buiten de markeerlijnen met een potlood (geen balpennen, markers etc.).

- Pipetteer **10 µl DNAT** (blauwe dop) in de benedenhoek van elke baan die in de Typing Trays moet worden gebruikt (één baan per monster).
- Voeg **10 µl amplificatieproduct** in de overeenkomstige druppel DNAT toe.
- Meng grondig met een pipet. (De oplossing blijft blauw.)
- Laat het buisje **5 minuten** op kamertemperatuur staan.
- Voeg **1 ml Hybridization Buffer** (voorverwarmd tot 45 °C) in elke baan toe. Schud de tray voorzichtig. (De blauwe kleur verdwijnt.)
- Plaats een **Teststrip** met de gemarkeerde kant naar boven (lijnen zichtbaar!) in de respectievelijke banen. Volledig onderdompelen.
- Incubeer **30 minuten op 45 °C** op het schudplatform van het waterbad.

Stel een gematigde schudfrequentie in (ca. 50 tpm) om morsen te voorkomen. Houd het deksel van het waterbad gesloten om temperatuurschommelingen te voorkomen.

- Verwijder aan het einde van de incubatie de hybridisatieoplossingen door vacuümzuigen of pipetteren.

Ga onmiddellijk verder. Zorg ervoor dat Teststrips tijdens de gehele procedure niet drooglopen.

3.2. Stringent Wash (45 °C, waterbad schudden)

- Voeg **1 ml Wash Solution A** (voorverwarmd tot 45 °C) toe. Kort spoelen (10 sec.). Verwijder vloeistoffen door vacuümafzuiging of pipetteren.
- Voeg **1 ml Wash Solution A** (45 °C) toe.
- Incubeer **15 minuten op 45 °C** in het schuddende waterbad. Verwijder vloeistoffen door vacuümafzuiging of pipetteren.
- Voeg **1 ml Wash Solution A** (45 °C) toe.
- Incubeer **15 minuten op 45 °C** in het schuddende waterbad. Verwijder vloeistoffen door vacuümafzuiging of pipetteren.

3.3. Colorimetric Detection (kamertemperatuur, 22 °C ± 3 °C)

- Voeg **1 ml Conjugate Solution** toe.
- Incubeer **15 minuten** op **kamertemperatuur** op een rocker of een rondschildapparaat. Verwijder vloeistoffen door vacuümafzuiging of pipetteren.
- Voeg **1 ml Wash Solution B** toe. Kort spoelen (10 sec.). Verwijder vloeistoffen door vacuümafzuiging of pipetteren.
- Voeg **1 ml Wash Solution B** toe.
- Incubeer **5 minuten** op **kamertemperatuur** op een rocker of een rondschildapparaat. Verwijder vloeistoffen door vacuümafzuiging of pipetteren.
- Voeg **1 ml Wash Solution B** toe.
- Incubeer **5 minuten** op **kamertemperatuur** op een rocker of een rondschildapparaat. Verwijder vloeistoffen door vacuümafzuiging of pipetteren.
- Voeg **1 ml Color Developer** toe.
- Incubeer **15 minuten** op **kamertemperatuur** in het donker op een rocker of een rondschildapparaat. Bij een positieve reactie verschijnt een paarse kleuring.
- Was de Teststrips meerdere malen met gedestilleerd water. Laat de strips in het donker op absorberend papier drogen.

Stel de Teststrips na de Color Developer niet bloot aan fel licht.

3.4. Hybridisatie (geautomatiseerd) - optioneel in plaats van waterbad en shaker

Een instrument voor de geautomatiseerde verwerking van Teststrips moet aan de volgende eisen voldoen:

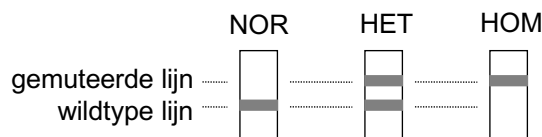
- Programmeerbaar temperatuur- en tijdprofiel volgens hoofdstuk 3.1 tot 3.3 van de StripAssay®-procedure.
- Geïntegreerd voorverwarmingsstation voor Hybridization Buffer en Wash Solution A.
- Temperatuurregeling van trays tijdens hybridisatie- en Stringent Wash-stappen bij 45 °C ± 1 °C.
- Actief koelsysteem van de tray om te zorgen voor een snelle temperatuurdaling voor Colorimetric Detection-stappen bij kamertemperatuur.
- Schudmogelijkheid voor tray.
- Verwarmd deksel voor de tray om verdamping van reagentia tijdens de incubatie te voorkomen.
- Dosering van gedefinieerde reagensvolumes.
- Aspiratie van reagentia.
- Afhankelijk van het gebruikte instrument en het aantal monsters dat in één run wordt verwerkt zijn mogelijk extra reagentia nodig. Er zijn aparte StripAssay® Detection Reagents verkrijgbaar voor 20 tests (REF CS-012) en 48 tests (REF CS-017).

VII. INTERPRETATIE VAN RESULTATEN

Het genotype van een monster wordt bepaald met behulp van het bijgevoegde Collector™ Sheet. Plaats de verwerkte Teststrip in een van de daarvoor bestemde velden, lijn deze uit met de schematekening met behulp van de rode markeringslijn (boven) en de groene markeringslijn (onder) en bevestig deze met plakband.

Een positieve reactie van de bovenste controlelijn duidt op de juiste werking van Conjugate Solution en Color Developer. Deze lijn moet altijd positief kleuren.

Voor elke polymorfe positie moet een van de volgende kleuringpatronen (Afb. 2) worden verkregen:



Afb. 2: Genotypen – vlekkenpatronen op de Teststrip

	wildtype lijn	gemuteerde lijn	genotype
NOR	positief	negatief	normaal
HET	positief	positief	heterozygoot
HOM	negatief	positief	homozygote mutant

Opmerking: De kleurintensiteit van positieve lijnen kan variëren. Dit is niet van belang voor het resultaat.

Zie voorbeelden van StripAssay®-resultaten op pagina 18 (Afb. 3).

Sommige van de mutaties die door de FMF StripAssay® worden gedekt, bevinden zich binnen een paar nucleotiden van het *MEFV*-gen. Op de Teststrips worden deze weergegeven door een gemeenschappelijke wildtype-probe, zodat de 12 mutaties slechts door 8 wildtype-probes worden gedekt:

lijn	wildtype-probe	mutatie
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

Monsters die samengesteld heterozygoot zijn voor twee van deze mutaties (bijv. M694V + M694I, M694V + K695R) zullen het gebruikelijke wildtypesignaal missen (zie voorbeelden I en J, pagina 18).

Zoals bij elke diagnostische test moeten de resultaten van de FMF StripAssay® worden geïnterpreteerd in de context van het algehele klinische fenotype van de patiënt en andere medische onderzoeken waarover de arts beschikt. ViennaLab Diagnostics GmbH is niet verantwoordelijk voor eventuele klinische beslissingen die worden genomen.

VIII. PRESTATIE-EVALUATIE

De **nauwkeurigheid** van de FMF StripAssay® werd bepaald door 173 vooraf getypeerde genomische DNA-monsters te analyseren. De resultaten waren volledig in overeenstemming met de referentiemethode (Sanger-sequentie, denaturerende gradiëntgelelektroforese (DGGE, denaturing gradient gel electrophoresis) en restrictiefragmentlengtepolymorfisme (RFLP, restriction fragment length polymorphism)). Met de test werden 251 mutante allelen (= 100% positieve procentovereenkomst) en 103 wildtype allelen (= 100% negatieve procentovereenkomst) correct gedetecteerd.

De **precisie** van de FMF StripAssay® werd beoordeeld als variabiliteit tussen replicaten, operators, dagen, reagenspartijen, thermocyclers en hybridisatieapparaten (handmatige en semi-automatische hybridisatie). In een totaal van 106 testreplicaten die onder de onderzochte parameters werden uitgevoerd, vertoonden alle tests de verwachte genotyperingsresultaten. Er waren slechts verwaarloosbare verschillen in kleurintensiteit van Teststrips zichtbaar en er werd geen achtergrondkleuring waargenomen. De FMF StripAssay® werd gevalideerd op het AB GeneAmp® PCR System 2700, AB GeneAmp® PCR System 9700, AB Veriti en MJ Research PTC-200, die een verwarmings- en koelsnelheid van respectievelijk 1,7 tot 4,2 °C/sec en 1,4 tot 3,7 °C/sec vertegenwoordigen.

Het gebruik van andere thermocyclers moet door de gebruiker worden geverifieerd.

Analytische specificiteit wordt in de eerste plaats gegarandeerd door de selectie van genspecifieke primers en allelspecifieke capture-probes, evenals door de selectie van stringente reactieomstandigheden. De primers en probes werden gecontroleerd op mogelijke homologieën met alle sequenties die gepubliceerd zijn in genendatabases door sequentievergelijkinganalyse. Daarbij is de detecteerbaarheid van alle relevante genotypen gegarandeerd. Mogelijke kruisreactiviteit tussen capture-probes werd geverifieerd met synthetisch DNA dat het respectieve genfragment bevatte. Er werd geen kruisreactiviteit waargenomen.

Klinische prestaties: Beoordeling van de klinische prestaties van de FMF StripAssays® ter ondersteuning van klinisch bewijs omvatte een systematische review van beschikbare gegevens en toepasselijke elementen. Als resultaat van het literatuuronderzoek werden 22 publicaties geïdentificeerd die betrekking hadden op de veiligheid en prestaties van de FMF StripAssays®, die de klinische bruikbaarheid van de FMF StripAssay® aantonen. Er zijn geen bijwerkingen of afwijkingen vastgesteld in de vergelijkende onderzoeken naar methoden. Samenvattend worden de klinische prestaties, de voordelen en de veiligheid van de FMF StripAssay® bevestigd wanneer het apparaat wordt gebruikt zoals bedoeld voor de diagnose van Familiaire Mediterrane Koorts.

IX. INTERFERERENDE STOFFEN

Er zijn vijf interfererende stoffen (hemoglobine, immunoglobine G, sporen van bloed, ethanol en EDTA) getest die mogelijk aanwezig zijn in DNA-preparaten afgeleid van EDTA-bloed. Hun effecten op PCR werden geëvalueerd in drie gezuiverde DNA-monsters waaraan verschillende concentraties stoffen waren toegevoegd en vergeleken met hun controles zonder toevoeging van interfererende stoffen. Alle monsters werden in drievoud geanalyseerd.

Een eindconcentratie van <10 µM hemoglobine, 0,1 µM immunoglobuline G, <1% perifeer bloed, 1,25% ethanol of 0,1 mM EDTA in de reactie had geen invloed op de prestaties van StripAssay®.

X. BEPERKINGEN VAN DE ASSAY

De FMF StripAssay® is exclusief ontworpen voor de detectie van 12 bekende mutaties zoals vermeld in hoofdstuk III, die worden weergegeven door allelspecifieke capture-probes op de Teststrips. Andere *MEFV*-mutaties die mogelijk aanwezig zijn in het monster van een patiënt kunnen niet worden gedetecteerd.

Zeldzame of particuliere varianten binnen verbindingplaatsen van primers en probes kunnen leiden tot mislukken van de amplificatie en ontbrekende signalen op Teststrips.

DNA-monsters die zijn verkregen met andere methoden dan de reagentia en het protocol die bij de FMF StripAssay® worden geleverd kunnen in sommige gevallen zwakke of ontbrekende signalen voor wildtype en mutant E148Q vertonen. Dit effect is te wijten aan een verminderde efficiëntie van de PCR voor dit specifieke fragment en is waargenomen met verschillende populaire DNA-extractiekits. Het voorverwarmen van dergelijke DNA-monsters tot 98 °C gedurende 10 minuten, onmiddellijk gevolgd door afkoeling op ijs of in een koud blok voordat de PCR wordt opgezet, kan de normale PCR-opbrengst volledig herstellen.

De FMF StripAssay® is uitsluitend bedoeld voor professioneel gebruik in laboratoria.

XI. KWALITEITSOVERWEGINGEN

- Om betrouwbare resultaten te verkrijgen, zijn een grondig begrip van de hier beschreven procedure, evenals standaard laboratoriumtechnieken en geschikte apparatuur vereist.
- Gebruik StripAssay®-kits niet na de vervaldatum.
- Na de eerste opening van de primaire verpakking zijn StripAssay®-reagentia stabiel tot de vervaldatum die op het buitenste etiket van de kit staat vermeld, mits op de juiste manier bewaard bij 2 °C tot 8 °C.
- Gebruik steriele wegwerppipettips met filters om microbiële besmetting en kruisbesmetting van reagentia of monsters te voorkomen. Verwissel de flessendoppen niet.
- Alleen voor eenmalig gebruik.

XII. VEILIGHEID

- Drink, eet, rook niet en breng geen cosmetica aan in de aangewezen werkruimtes. Draag laboratoriumjassen en wegwerphandschoenen bij het hanteren van monsters en kitreagentia. Was daarna de handen grondig.
- Behandel monsters alsof ze besmettelijke agentia kunnen overdragen. Reinig en desinfecteer grondig alle materialen en oppervlakken die in contact zijn geweest met monsters. Gooi al het afval van klinische monsters weg in een container voor biologisch gevaarlijk afval.
- Vermijd contact van DNAT en Color Developer met de huid, ogen of slijmvliezen. Als er toch contact optreedt, was dan onmiddellijk met grote hoeveelheden water. Indien gemorst, verdunnen met water voordat u het droogveegt.
- Houd u aan alle lokale en federale veiligheids- en milieuvoorschriften die van toepassing kunnen zijn.

XIII. TECHNISCHE ONDERSTEUNING

Technische ondersteuning kan worden verkregen door:

- de plaatselijke distributeur van ViennaLab Diagnostics (www.viennalab.com/distribution)
- Video-handleidingen (www.viennalab.com/support)
- De handleiding van StripAssay® (www.viennalab.com/support)
- de Troubleshooting Guide (Gids voor probleemoplossing) van StripAssay® (www.viennalab.com/support)
- Door contact op te nemen met techhelp@viennalab.com












XIV. REFERENTIES

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

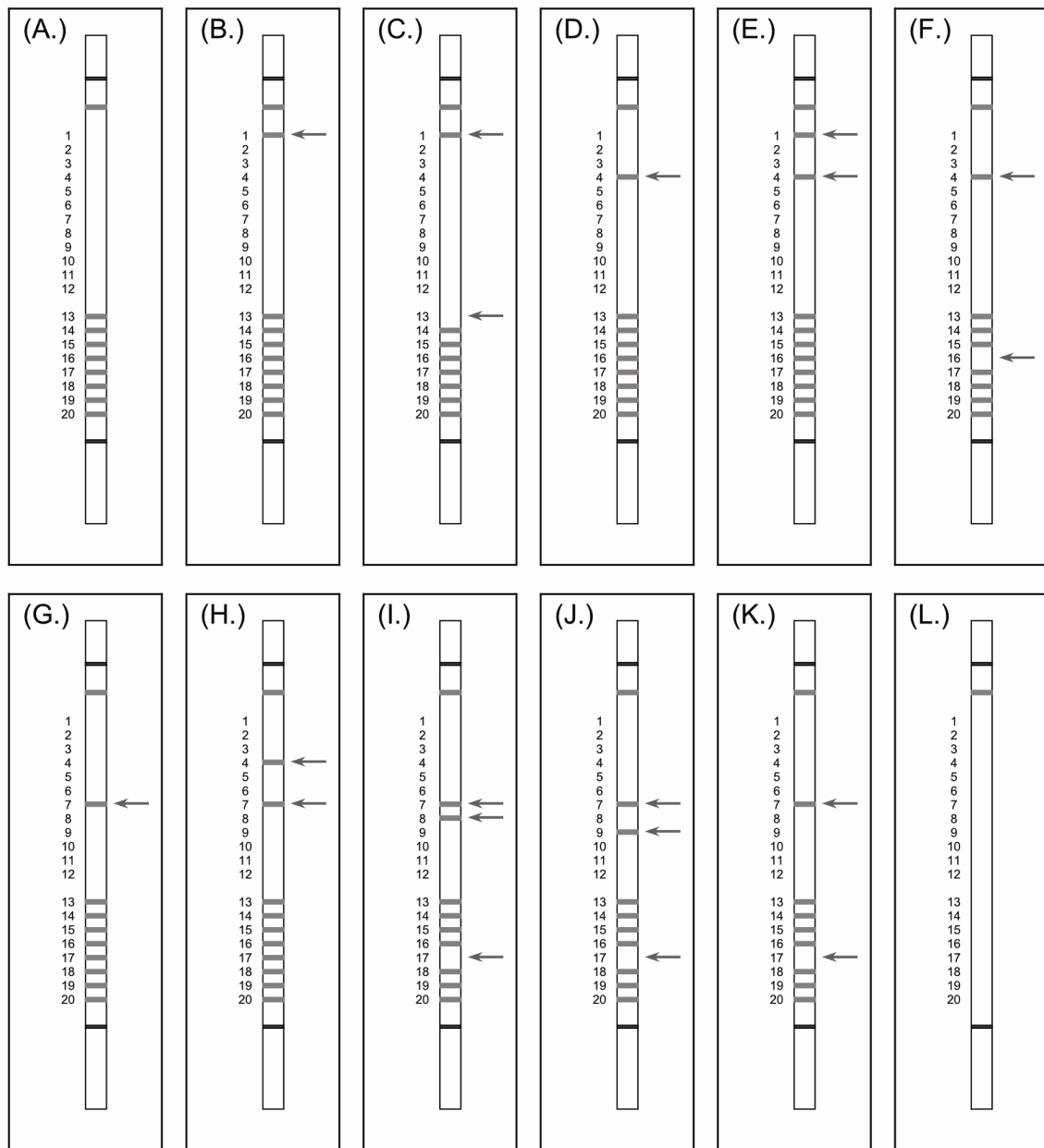
XV. FEEDBACK AAN DE FABRIKANT

Elk ernstig incident dat zich heeft voorgedaan met betrekking tot de StripAssay® moet worden gerapporteerd aan de bevoegde autoriteit van het land en aan de fabrikant.

XVI. SYMBOLEN

	Catalogusnummer
	Batchcode
	Medisch hulpmiddel voor <i>in-vitro</i> diagnostiek
	Voldoet aan de Europese IVD-verordening 2017/746
0123	Identificatienummer van de aangemelde instantie
	Voldoende voor <n> tests
	Limieten voor opslagtemperatuur
	Gebruiken voor
	Voorzichtig
	Fabrikant
	Productiedatum
	Raadpleeg de gebruiksaanwijzing

XVII. VOORBEEDEN VAN TESTRESULTATEN




Afb. 3: Voorbeelden van resultaten verkregen met de FMF StripAssay®

- | | |
|---------------------------------------|---|
| (A.) normaal | (G.) M694V heterozygoot |
| (B.) E148Q heterozygoot | (H.) M680I (G/C) - M694V heterozygoot |
| (C.) E148Q homozygoot | (I.) M694V - M694I heterozygoot |
| (D.) M680I (G/C) heterozygoot | (J.) M694V - K695R heterozygoot |
| (E.) E148Q - M680I (G/C) heterozygoot | (K.) M694V homozygoot |
| (F.) M680I (G/C) homozygoot | (L.) negatieve controle of mislukte PCR |

OPMERKINGEN

XVIII. AANVERWANTE PRODUCTEN

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 extracties
2-020	Spin Micro DNA Extraction Kit	20 extracties
6-080	Typing Trays	5

Distributeur:

 **Fabrikant:**

 **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