

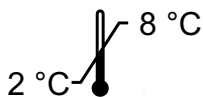
# FMF StripAssay<sup>®</sup>

Instruções de utilização

**REF**



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



Versão: rev 1.0/Português  
IFU em formato eletrónico e outros  
idiomas disponíveis em  
[www.viennalab.com](http://www.viennalab.com)

**IVD**

**CE** 0123



**ViennaLab Diagnostics GmbH**

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

t: +43 1 8120156-0

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

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

**ÍNDICE**

I.	INTENDED PURPOSE .....	4
II.	BACKGROUND.....	4
III.	METHODOLOGY .....	4
IV.	KIT COMPONENTS .....	6
V.	MATERIALS REQUIRED BUT NOT SUPPLIED .....	7
VI.	ASSAY PROCEDURE .....	8
VII.	INTERPRETATION OF RESULTS .....	12
VIII.	PERFORMANCE EVALUATION.....	14
IX.	INTERFERING SUBSTANCES.....	14
X.	LIMITATIONS OF THE ASSAY.....	15
XI.	QUALITY CONSIDERATIONS.....	15
XII.	SAFETY .....	15
XIII.	TECHNICAL SUPPORT.....	16
XIV.	REFERENCES .....	16
XV.	FEEDBACK TO THE MANUFACTURER.....	16
XVI.	SYMBOLS .....	17
XVII.	EXAMPLES OF TEST RESULTS .....	18
XVIII.	RELATED PRODUCTS.....	20

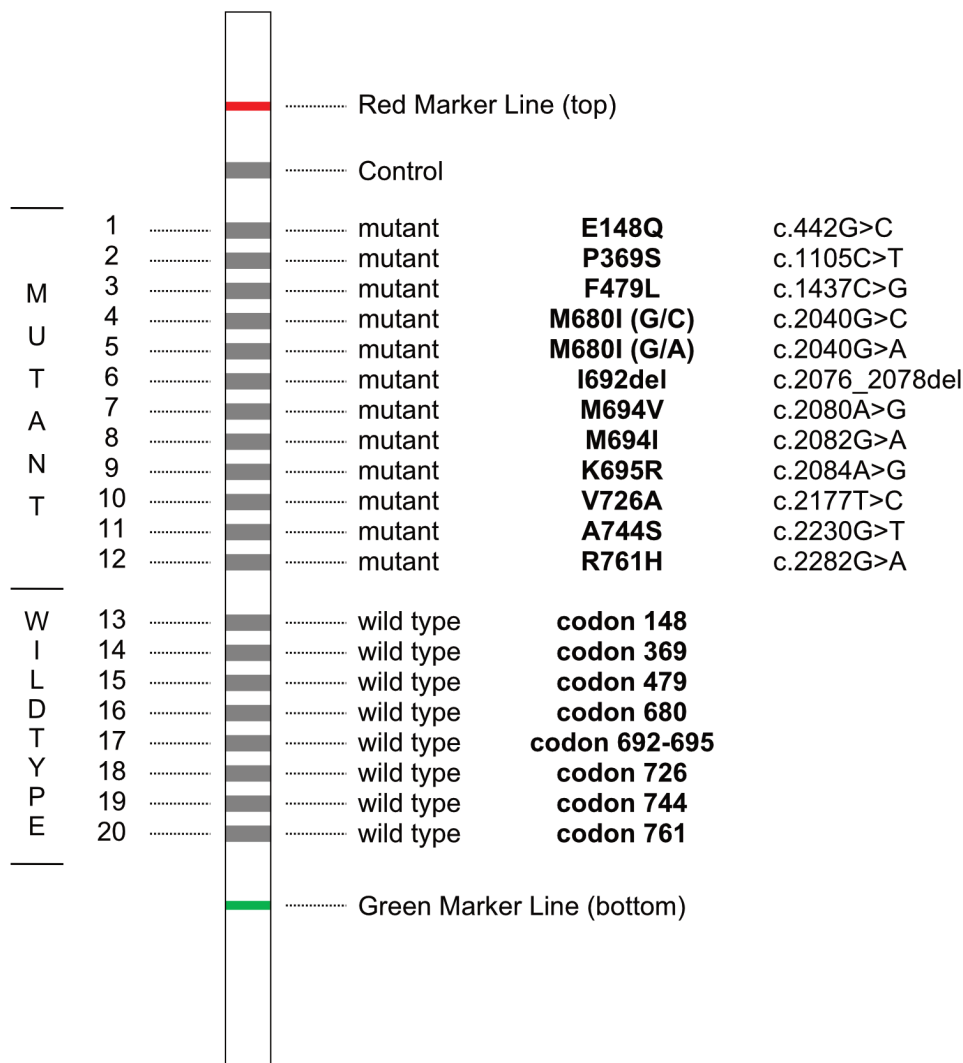
**HISTÓRICO DE REVISÕES:**

<b>versão</b>	<b>data</b>	<b>descrição</b>
rev 1.0	2022-11	Adição de conteúdos relacionados com o RDIV na versão 2022-01.

---

---

O Resumo de Segurança e Desempenho (SSP, Summary of Safety and Performance) do StripAssay® pode ser encontrado na Base de Dados Europeia sobre Dispositivos Médicos (EUDAMED): <https://ec.europa.eu/tools/eudamed> ou junto do fabricante.



EN	PT
mutant	mutante
wildtype	tipo selvagem
control	controlo
red marker line (top)	linha de marcação vermelha (parte superior)
green marker line (bottom)	linha de marcação verde (parte inferior)

**Fig. 1: Design da Teststrip**

**Nota:** As Teststrips não são desenhadas em tamanho real e não devem ser utilizadas para a interpretação dos resultados!

## **FINALIDADE PREVISTA**

O FMF StripAssay® é um teste genético qualitativo para a análise direcionada de 12 mutações frequentes no gene *MEFV* associadas à febre mediterrânica familiar (FMF, *Familial Mediterranean Fever*). Para a testagem, é utilizado ADN genómico extraído de amostras de sangue periférico total. O FMF StripAssay® foi concebido para ajudar no diagnóstico da FMF em doentes que apresentem um padrão de sintomas clínicos consistente com FMF, ou familiares em risco de um doente com uma mutação *MEFV* patogénica identificada. O StripAssay® pode ser realizado manualmente ou de forma semi-automatizada.

Para utilização em diagnóstico *in vitro* em seres humanos.

## **I. ENQUADRAMENTO**

A Febre Mediterrânica Familiar é a doença autoinflamatória monogénica mais comum, que se caracteriza por episódios febris recorrentes, acompanhados de dor no abdómen (peritonite), no peito (pleurite) ou nas articulações (artrite) e eritema cutâneo do tipo erisipela. A amiloidose reativa sistémica (AA) é conhecida por ser a principal complicação a longo prazo, com uma manifestação grave e um mau prognóstico. A FMF tem um padrão de hereditariedade autossómico recessivo na maioria dos casos e é observada principalmente em doentes das populações do Mediterrâneo ou do Médio Oriente. Foram descritas várias variantes dentro do gene da febre mediterrânica (*MEFV*, *Mediterranean fever*), como os defeitos moleculares que causam a FMF. O próprio gene *MEFV* está localizado no cromossoma 16p13.3 e compreende 10 exões, que codificam uma proteína de 781 aminoácidos conhecida como pirina. A representação clínica da FMF pode ser complexa, pelo que o teste genético para detetar mutações no gene *MEFV* é uma forma viável de confirmar o diagnóstico.

## **II. METODOLOGIA**

O FMF StripAssay® baseia-se na reação em cadeia da polimerase (PCR, *polymerase chain reaction*) e na hibridização reversa. O procedimento inclui três etapas: (1) isolamento do ADN, (2) amplificação por PCR utilizando iniciadores biotinilados, (3) hibridização de produtos de amplificação numa Teststrip contendo sondas de oligonucleótidos específicos do alelo, imobilizadas como um conjunto de linhas paralelas (Fig. 1). As sequências biotiniladas ligadas são detetadas utilizando fosfatase alcalina-estreptavidina e substratos de cor.

O FMF StripAssay® deteta as seguintes mutações no locus do gene *MEFV*:

	nome do legado	nomenclatura 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

Sequência de Referência (RefSeq, Reference Sequence):



NM\_000243.2

NG\_007871.1

O teste pode ser realizado manualmente ou de forma semi-automatizada utilizando instrumentos concebidos para a automação do processamento de Teststrip (consulte a secção VI. 3.4).

III. COMPONENTES DO 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 ( <i>tampa amarela</i> )	500 µl	2 x 500 µl	500 µl
4. Taq Dilution Buffer ( <i>tampa transparente</i> )	500 µl	500 µl	500 µl
5. Taq DNA Polymerase (5 U/µl) ( <i>tampa vermelha</i> )	75 U	125 U	75 U
6. DNAT ( <i>tampa azul</i> )	1,5 ml	1,5 ml	1,5 ml
<p> Aviso: DNAT contém 1,6 % de NaOH                      H315: Provoca irritação cutânea.                      H319: Provoca irritação ocular grave                      P280: Usar luvas de proteção/vestuário de proteção/proteção ocular/proteção facial                      P337 + P313: Caso a irritação ocular persista: consulte um médico</p>			
7. Typing Trays	3	---	1
8. Teststrips	20	2 x 24	5
9. Hybridization Buffer ( <i>tampa branca</i> )	25 ml	65 ml	25 ml
10. Wash Solution A ( <i>tampa branca</i> )	80 ml	200 ml	80 ml
11. Conjugate Solution ( <i>tampa transparente</i> )	25 ml	65 ml	25 ml
12. Wash Solution B ( <i>tampa transparente</i> )	80 ml	200 ml	80 ml
13. Color Developer ( <i>tampa castanha</i> )	25 ml	65 ml	25 ml
<p> Aviso: O Color Developer contém ≤0,4% de ácido maleico                      H317: Pode provocar uma reação alérgica cutânea                      P280: Usar luvas de proteção/vestuário de proteção/proteção ocular/proteção facial                      P302 + P352: Se entrar em contacto com a pele: lavar abundantemente com água                      P333 + P313: Em caso de irritação ou erupção cutânea: consulte um médico</p>			
14. Instruções de utilização	1	1	1
15. Collector™ Sheet	1	3	1

**Nota:** Conserve todos os reagentes de 2 °C a 8 °C quando não estiverem a ser utilizados!

nome do componente	composição
Lysis Solution	solução hipotónica contendo KHCO <sub>3</sub> , NH <sub>4</sub> Cl, EDTA
GENXTRACT™ Resin	Chelex 100 Resin MB numa solução tamponada
Amplification Mix	oligonucleótidos marcados com 5'-biotina específicos da sequência, uma mistura equimolar de desoxirribonucleotídeos trifosfatados (dATP, dCTP, dGTP e dTTP), tampão de sulfato de amónio, glicerol, 0,05% de azida de sódio
Taq Dilution Buffer	tampão para Taq DNA Polymerase, incluindo (NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> e MgCl <sub>2</sub> , 0,05% de azida de sódio
Taq DNA Polymerase (5 U/µl)	Taq DNA polymerase a uma concentração de 5 U/µl
DNAT	solução básica contendo 1,6 % de hidróxido de sódio e um corante azul que indica uma mudança de pH
Typing Trays	bandeja de plástico com oito poços

nome do componente	composição
Teststrips	sondas de oligonucleótidos específicos do alelo e um controlo de hibridização imobilizado como um conjunto de linhas paralelas numa membrana suportada por poliéster, com uma linha vermelha na parte superior e uma verde na parte inferior
Hybridization Buffer	tampão de fosfato com <2% de detergente
Wash Solution A	tampão de citrato com <1% de detergente
Conjugate Solution	estreptavidina conjugada com fosfatase alcalina diluída num tampão de base salina com 0,05% de azida de sódio
Wash Solution B	tampão de tris contendo <2% de detergente e 0,05% de azida de sódio
Color Developer	substrato de cor para a fosfatase alcalina contém azul de nitrotetrazólio (NBT, nitro blue tetrazolium) e 5-bromo-4-cloro-3-indolil fosfato (BCIP, 5-bromo-4-chloro-3-indolyl phosphate)
Instruções de utilização	papel impresso
Collector™ Sheet	papel impresso

#### IV. MATERIAIS NECESSÁRIOS, MAS NÃO FORNECIDOS

Além do equipamento padrão de laboratório de biologia molecular, são necessários os seguintes itens:

- Termobloco ou termomisturador para tubos de reação de 1,5 ml com controlo de temperatura até 99 °C
- Microcentrifuga regulável com capacidade para 3.000-12.000 rpm (1.000-12.000 x g)
- Termociclador com tampa aquecida (para especificações das taxas de rampa, consulte a secção VII)
- Banho de água com plataforma de agitação, tampa e temperatura ajustável (45 °C ± 1 °C)
- Agitador (agitador oscilante ou orbital)

##### Opcional:

- Aparelho de aspiração a vácuo
- Termoagitador para formato de placa de microtitulação com tampa e temperatura ajustável (45 °C ± 1 °C), por exemplo, PST-60 HL (Biosan) ou dispositivo equivalente
- Instrumento para hibridização automatizada, ajustável ao perfil de tempo-temperatura descrito na secção VI. 3.4, por exemplo, DYNABLOT Heat (Dynex) ou dispositivo equivalente
- Equipamento de eletroforese em gel de agarose (para controlo dos produtos de amplificação)

## V. PROCEDIMENTO DE ENSAIO

### 1. Preparação da amostra

**Amostra:** Utilize sangue fresco ou congelado com anticoagulante EDTA. Sangue contendo heparina ou citrato não foi testado. Não conserve o sangue durante mais de 3 dias à temperatura ambiente ou durante mais de 1 semana a uma temperatura entre 2 °C e 8 °C antes da utilização. Não utilize sangue que tenha sido mantido congelado durante mais de um ano ou que tenha passado por mais de três ciclos de congelação/descongelação. Para a colheita e o transporte de amostras, siga as instruções de utilização do tubo de recolha de sangue com EDTA e as recomendações gerais para a colheita de amostras de sangue.

**Extração de ADN:** Deixe as amostras de sangue estabilizar à temperatura ambiente. Misture bem, invertendo cuidadosamente os tubos de recolha de sangue várias vezes. Permita que a Lysis Solution e a GENXTRACT™ Resin estabilizem à temperatura ambiente.

- Pipete **100 µl da amostra de sangue** para um microtubo de 1,5 ml com tampa de rosca.
- Adicione **1 ml de Lysis Solution**, feche o tubo e misture, invertendo-o várias vezes.
- Deixe estabilizar durante **15 minutos** à temperatura ambiente.
- Centrifugue durante **5 minutos a 3.000 rpm** (aproximadamente 1.000 x g) numa microcentrífuga.
- Retire e descarte o 1 ml superior (topo) de sobrenadante.
- Adicione **1 ml de Lysis Solution**, feche o tubo e misture, invertendo-o várias vezes.
- Centrifugue durante **5 minutos a 12.000 rpm** (aproximadamente 12.000 x g) numa microcentrífuga.
- Retire e descarte o sobrenadante, exceto cerca de 50 µl de um *pellet* suave e visível.
- Ressuspenda a GENXTRACT™ Resin agitando bem a garrafa.
- Adicione **200 µl de GENXTRACT™ Resin** ao *pellet*. Feche o tubo e agite no vórtex durante 10 segundos.

**Nota:** A GENXTRACT™ Resin sedimenta rapidamente. Repita a ressuspensão sempre imediatamente antes de retirar outra alíquota.

- Incube durante **20 minutos a 56 °C**. Agite no vórtex durante 10 segundos.
- Incube durante **10 minutos a 98 °C**. Agite no vórtex durante 10 segundos.
- Centrifugue durante **5 minutos a 12.000 rpm** numa microcentrífuga. Arrefeça no gelo.

O sobrenadante resultante contém um modelo de ADN adequado para uso imediato na PCR. Para conservação adicional, o sobrenadante deve ser transferido para um tubo novo e mantido refrigerado (2 °C a 8 °C; até uma semana) ou congelado entre -30 °C e -15 °C (a longo prazo).

A utilização de outros métodos de isolamento de ADN com o FMF StripAssay® não foi validada. No caso de serem utilizados outros sistemas de extração de ADN, a concentração e a pureza do ADN devem situar-se num intervalo de 2 a 10 ng/µl e um rácio de OD<sub>A260/280</sub> de 1,7 a 2,0, respetivamente. Concentrações de ADN mais elevadas têm de ser diluídas ao intervalo recomendado antes da introdução na PCR.

## 2. Amplificação in Vitro (PCR)

**Importante:** Mantenha todos os reagentes da PCR e os modelos de ADN refrigerados ao longo do procedimento.

- Prepare sempre novamente uma quantidade apropriada de solução de trabalho (1:25, conc. final de 0,2 U/μl) de **Taq DNA Polymerase** (5 U/μl, tampa vermelha) em **Taq Dilution Buffer** (tampa transparente) para o número de amostras a analisar, além do **controlo sem modelo** (NTC, no-template control).

componente	por reação	por exemplo, 10 reações
Taq DNA Polymerase (5 U/μl)	0,2 μl	2 μl
Taq Dilution Buffer	4,8 μl	48 μl
solução de trabalho	5 μl	50 μl

- Prepare um tubo de reação para cada amostra a ser amplificada. Coloque os tubos no gelo.
- Prepare uma mistura final de reação de PCR em gelo para cada amostra:  
**15 μl Amplification Mix** (tampa amarela)  
**5 μl Taq DNA Polymerase diluída** (1U)  
**5 μl modelo de ADN**

**Nota:** Recomenda-se preparar uma Master Mix para todas as amostras contendo Amplification Mix e Taq DNA Polymerase diluída. Primeiro, pipete 20 μl da Master Mix para cada tubo de PCR e, em seguida, adicione o modelo de ADN. Inclua um controlo sem modelo em cada execução, utilizando água de grau PCR em vez de DNA (ou, preferencialmente, o controlo negativo da sua extração de ADN).

Em geral, prepare soluções de trabalho/Master Mix com 10% de volume excedente para compensar imprecisões de pipetagem.

- Feche bem os tubos. Pré-aqueça o termociclador a 94 °C.
- Insira os tubos de reação e execute o seguinte programa de termociclagem:  
**pré-PCR: 94°C/2 min.**  
**termociclagem: 94 °C/15 seg. - 58 °C/30 seg. - 72 °C/30 seg. (35 ciclos)**  
**extensão final: 72°C/3 min.**
- Conserve os produtos de amplificação no gelo ou a uma temperatura entre 2 °C e 8 °C para utilização posterior.

**Opcional:** Analise os produtos de amplificação por eletroforese em gel (por exemplo, gel de agarose a 3%).

Comprimentos dos fragmentos: 206, 236, 295, 318 bp

### 3. Processamento das Teststrips

#### 3.1. Hibridação (manual) – 1 Teststrip por amostra (45 °C, banho de água com agitação)

**Importante:** Ajuste o nível de água do banho para aproximadamente metade da altura do Typing Tray. Aqueça o banho de água a exatamente 45 °C. Verifique a temperatura da água com um termómetro calibrado. Pré-aqueça o Hybridization Buffer e a Wash Solution A a 45 °C. Certifique-se de que todos os precipitados formados a uma temperatura entre 2 °C e 8 °C se dissolvem completamente. Permita que as Teststrips, DNAT, Conjugate Solution, Wash Solution B e Color Developer alcancem a temperatura ambiente. Prepare o(s) Typing Tray(s).

Retire uma Teststrip para cada amostra utilizando uma pinça limpa. Manuseie as Teststrips apenas com luvas sem talco! Rotule as Teststrips fora das linhas de marcadores com um lápis (não utilize esferográficas, marcadores, etc.).

- Pipete **10 µl de DNAT** (tampa azul) no canto inferior de cada pista a ser usada nos Typing Trays (uma pista por amostra).
- Adicione **10 µl de produto de amplificação** à gota correspondente de DNAT.
- Misture bem com uma pipeta. (A solução deverá permanecer azul.)
- Deixe estabilizar durante **5 minutos** à temperatura ambiente.
- Adicione **1 ml de Hybridization Buffer** (pré-aquecido a 45 °C) a cada pista. Agite suavemente o tabuleiro. (A cor azul irá desaparecer.)
- Insira a **Teststrip** com o lado marcado para cima (linhas visíveis!) nas respetivas pistas. Submerja completamente.
- Incube durante **30 minutos a 45 °C** na plataforma de agitação do banho de água.

Defina uma frequência de agitação moderada (aproximadamente 50 rpm) para evitar derramamentos. Mantenha a tampa do banho de água fechada para evitar variações de temperatura.

- No final da incubação, remova as soluções de hibridação por aspiração de vácuo ou pipetagem.

Prossiga imediatamente. Não permita que as Teststrips sequem durante todo o procedimento.

#### 3.2. Lavagem de estrigência (45 °C, banho de água com agitação)

- Adicione **1 ml de Wash Solution A** (pré-aquecida a 45 °C). Enxagúe brevemente (10 seg.).  
Remova os líquidos por aspiração de vácuo ou pipetagem.
- Adicione **1 ml de Wash Solution A** (a 45 °C).
- Incube durante **15 minutos a 45 °C** em banho de água com agitação.  
Remova os líquidos por aspiração de vácuo ou pipetagem.
- Adicione **1 ml de Wash Solution A** (a 45 °C).
- Incube durante **15 minutos a 45 °C** em banho de água com agitação.  
Remova os líquidos por aspiração de vácuo ou pipetagem.

### 3.3. Detecção Colorimétrica (temperatura ambiente, 22 °C ± 3 °C)

- Adicione **1 ml de Conjugate Solution**.
- Incube durante **15 minutos à temperatura ambiente** num agitador oscilante ou orbital. Remova os líquidos por aspiração de vácuo ou pipetagem.
- Adicione **1 ml de Wash Solution B**. Enxagúe brevemente (10 seg.). Remova os líquidos por aspiração de vácuo ou pipetagem.
- Adicione **1 ml de Wash Solution B**.
- Incube durante **5 minutos à temperatura ambiente** num agitador oscilante ou orbital. Remova os líquidos por aspiração de vácuo ou pipetagem.
- Adicione **1 ml de Wash Solution B**.
- Incube durante **5 minutos à temperatura ambiente** num agitador oscilante ou orbital. Remova os líquidos por aspiração de vácuo ou pipetagem.
- Adicione **1 ml de Color Developer**.
- Incube durante **15 minutos à temperatura ambiente no escuro** num agitador oscilante ou orbital.  
Aparecerá uma coloração roxa em caso de reação positiva.
- Lave as Teststrips várias vezes com água destilada.  
Deixe as tiras secar **no escuro** sobre papel absorvente.

Não exponha as Teststrips a luz intensa após o Color Development.

### 3.4. Hibridação (automatizada) - opcional em vez de banho de água e agitador

Um instrumento para o processamento automatizado de Teststrips deve satisfazer os seguintes requisitos:

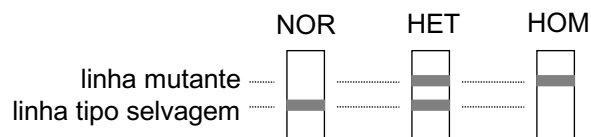
- Perfil de temperatura e tempo programável de acordo com a secção 3.1 a 3.3 do procedimento do StripAssay®.
- Estação de pré-aquecimento integrada para o Hybridization Buffer e a Wash Solution A.
- Controlo de temperatura das bandejas durante as etapas de Hibridização e Lavagem de estrigência a 45 °C ± 1 °C.
- Sistema de arrefecimento ativo para a bandeja para garantir uma diminuição rápida da temperatura para as etapas de Detecção Colorimétrica à temperatura ambiente.
- Capacidade de agitação da bandeja.
- Tampa aquecida para a bandeja para evitar a evaporação dos reagentes durante a incubação.
- Dispensa de volumes de reagentes definidos.
- Aspiração de reagentes.
- Dependendo do instrumento utilizado e do número de amostras processadas numa única execução, podem ser necessários reagentes adicionais. Estão disponíveis StripAssay® Detection Reagents separados para 20 testes (REF CS-012) e 48 testes (REF CS-017).

## VI. INTERPRETAÇÃO DOS RESULTADOS

O genótipo de uma amostra é determinado utilizando a Collector™ Sheet anexa. Coloque a Teststrip processada num dos campos designados, alinhe-a com o desenho esquemático utilizando a linha de marcação vermelha (superior) e a linha de marcação verde (inferior) e fixe-as com fita adesiva.

Uma reação positiva da linha de Controlo mais acima indica o funcionamento correto da Conjugate Solution e do Color Developer. Esta linha deve adquirir sempre uma coloração positiva.

Para cada posição polimórfica, deve ser obtido um dos seguintes padrões de coloração (Fig. 2):



**Fig. 2: Genótipos – padrões de coloração na Teststrip**

	linha tipo selvagem	linha mutante	genótipo
NOR	<b>positivo</b>	negativo	normal
HET	<b>positivo</b>	<b>positivo</b>	heterozigótico
HOM	negativo	<b>positivo</b>	homozigótico mutante

**Nota:** As intensidades de coloração das linhas positivas podem variar. Isto não tem qualquer significado para o resultado.

**Veja exemplos** de resultados do StripAssay® na página 18 (Fig. 3).

Algumas das mutações abrangidas pelo FMF StripAssay® estão localizadas em poucos nucleótidos do gene *MEFV*. Nas Teststrips, estas são representadas por uma sonda comum de tipo selvagem, de modo que as 12 mutações sejam abrangidas apenas por 8 sondas de tipo selvagem:

linha	Sonda de tipo selvagem	mutação
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

As amostras que são heterozigóticas compostas para duas destas mutações (por exemplo, M694V + M694I, M694V + K695R) não terão o sinal comum de tipo selvagem (veja exemplos I e J, página 18).

Tal como acontece com qualquer teste de diagnóstico, os resultados do FMF StripAssay® devem ser interpretados no contexto do fenótipo clínico global do paciente e de outras investigações médicas à disposição do médico. A ViennaLab Diagnostics GmbH não é responsável por quaisquer decisões clínicas tomadas.

## VII. AVALIAÇÃO DO DESEMPENHO

A **exatidão** do FMF StripAssay® foi determinada analisando 173 amostras de ADN genómico previamente tipadas. Os resultados foram completamente concordantes com o método de referência (sequenciação de Sanger, eletroforese em gel de gradiente desnaturante (DGGE, *denaturing gradient gel electrophoresis*) e polimorfismo de comprimento de fragmentos de restrição (RFLP, *restriction fragment length polymorphism*). O ensaio detetou corretamente 251 alelos mutantes (= 100% de Concordância Percentual Positiva) e 103 alelos de tipo selvagem (= 100% de Concordância Percentual Negativa).

A **precisão** do FMF StripAssay® foi avaliada como a variabilidade entre réplicas, operadores, dias, lotes de reagentes, termocicladores e dispositivos de hibridação (hibridação manual e semi-automatizada). Num total de 106 réplicas de testes realizados ao abrigo dos parâmetros investigados, todos os testes apresentaram os resultados de genotipagem esperados. Apenas foram visíveis diferenças negligenciáveis na intensidade de coloração das Teststrips, e não foi observada coloração de fundo. O FMF StripAssay® foi validado nos sistemas AB GeneAmp® PCR System 2700, AB GeneAmp® PCR System 9700, AB Veriti e MJ Research PTC-200, que representam uma taxa de aquecimento e arrefecimento no intervalo de 1,7 a 4,2 °C/seg e 1,4 a 3,7 °C/seg, respetivamente.

A utilização de outros termocicladores deve ser verificada pelo utilizador.

A **Especificidade Analítica** é assegurada, antes de tudo, pela seleção de iniciadores específicos do gene e de sondas de captura específicas do alelo, bem como pela seleção de condições de reação estridentes. Os iniciadores e as sondas foram verificados quanto a possíveis homologias com todas as sequências publicadas em bases de dados de genes por análise de comparação de sequências. Desta forma, foi assegurada a detetabilidade de todos os génotipos relevantes. A possível reatividade cruzada entre sondas de captura foi verificada por ADN sintético que contém o fragmento de gene respetivo. Não foi observada reatividade cruzada.

**Desempenho clínico:** A avaliação do desempenho clínico do FMF StripAssay® para apoiar a evidência clínica compreendeu uma revisão sistemática de dados disponíveis e elementos aplicáveis. Como resultado da pesquisa bibliográfica, foram identificadas 22 publicações relacionadas com a segurança e o desempenho do FMF StripAssay®, que demonstram a utilidade clínica do FMF StripAssay®. Não foram identificados quaisquer acontecimentos adversos ou desvios nos estudos de comparação de métodos. Em resumo, o desempenho clínico, os benefícios e a segurança do FMF StripAssay® são confirmados quando o dispositivo é utilizado como pretendido para o diagnóstico de Febre Mediterrânica Familiar.

## VIII. SUBSTÂNCIAS INTERFERENTES

Foram testadas cinco substâncias interferentes (hemoglobina, imunoglobina G, vestígios de sangue, etanol e EDTA) potencialmente presentes em preparações de ADN derivadas de sangue com EDTA. Os seus efeitos na PCR foram avaliados em três amostras de ADN purificado, às quais foram adicionadas várias concentrações das substâncias, e comparados com os respetivos controlos sem adição de quaisquer substâncias interferentes. Todas as amostras foram analisadas em triplicado.

Uma concentração final de <10 µM de hemoglobina, 0,1 µM de imunoglobulina G, <1% de sangue periférico, 1,25% de etanol ou 0,1 mM de EDTA na reação não interferiram no desempenho do StripAssay®.

## IX. LIMITAÇÕES DO ENSAIO

O FMF StripAssay® foi exclusivamente concebido para a deteção de 12 mutações conhecidas, conforme listadas na secção II, que são representadas por sondas de captura específicas do alelo nas Teststrips. Outras mutações *MEFV* que possam estar presentes numa amostra do doente não podem ser detetadas.

Variantes raras ou privadas dentro de locais de ligação de iniciadores e sondas podem levar à falha na amplificação e à ausência de sinais nas Teststrips.

As amostras de ADN obtidas através de métodos diferentes dos reagentes e do protocolo fornecidos com o FMF StripAssay® podem, em alguns casos, apresentar sinais fracos ou nenhum para o tipo selvagem e mutante E148Q. O efeito deve-se a uma diminuição da eficiência da PCR para este fragmento específico e foi observado com vários kits de extração de ADN populares. O pré-aquecimento dessas amostras de ADN a 98 °C durante 10 minutos, imediatamente seguido de arrefecimento em gelo ou num bloco frio antes de preparar a PCR, pode restabelecer completamente os rendimentos normais da PCR.

O FMF StripAssay® destina-se apenas a uma utilização profissional em laboratório.

## X. CONSIDERAÇÕES DE QUALIDADE

- É necessária uma compreensão profunda do procedimento aqui descrito, bem como das técnicas de laboratório padrão e do equipamento adequado para obter resultados fiáveis.
- Não utilize os kits StripAssay® para além da respetiva data de validade.
- Após a primeira abertura do recipiente primário, os reagentes StripAssay® são estáveis até à data de validade impressa no rótulo exterior do kit quando armazenados corretamente a uma temperatura entre 2 °C e 8 °C.
- Utilize pontas de pipeta descartáveis estéreis com filtros para evitar a contaminação microbiana e a contaminação cruzada de reagentes ou amostras. Não troque as tampas dos frascos.
- Apenas para utilização única.

## XI. SEGURANÇA

- Não beba, coma, fume ou aplique cosméticos nas áreas de trabalho designadas. Use batas de laboratório e luvas descartáveis ao manusear amostras e reagentes do kit. Lave bem as mãos após a utilização.
- Manuseie as amostras como se fossem capazes de transmitir agentes infecciosos. Limpe e desinfete cuidadosamente todos os materiais e superfícies que tenham estado em contacto com as amostras. Elimine todos os resíduos associados a amostras clínicas num recipiente para resíduos biológicos.
- Evite o contacto de DNAT e Color Developer com a pele, os olhos ou as membranas mucosas. Em caso de contacto, lave imediatamente com água em abundância. Em caso de derramamento, dilua com água antes de limpar e secar.
- Cumpra todos os regulamentos de segurança e ambientais locais e federais que possam ser aplicáveis.

## **XII. APOIO TÉCNICO**

O apoio técnico pode ser obtido através de:

- o distribuidor local da ViennaLab Diagnostics ([www.viennalab.com/distribution](http://www.viennalab.com/distribution))
- Vídeos Tutoriais ([www.viennalab.com/support](http://www.viennalab.com/support))
- o Manual do StripAssay® ([www.viennalab.com/support](http://www.viennalab.com/support))
- o Guia de Resolução de Problemas do StripAssay® ([www.viennalab.com/support](http://www.viennalab.com/support))
- contactando [techhelp@viennalab.com](mailto:techhelp@viennalab.com)












## **XIII. REFERÊNCIAS**

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

## **XIV. COMENTÁRIOS AO FABRICANTE**

Qualquer incidente grave ocorrido relacionado com o StripAssay® deve ser comunicado à autoridade competente do país e ao fabricante.

## XV. SÍMBOLOS

	Número de catálogo
	Código do lote
	Dispositivo médico para diagnóstico <i>in vitro</i>
	Em conformidade com o Regulamento europeu relativo ao DIV 2017/746
0123	Número de identificação do organismo notificado
	Suficiente para <n> testes
	Limites de temperatura de conservação
	Data de validade
	Cuidado
	Fabricante
	Data de fabrico
	Consultar as Instruções de utilização

XVI. EXEMPLOS DE RESULTADOS DO TESTE

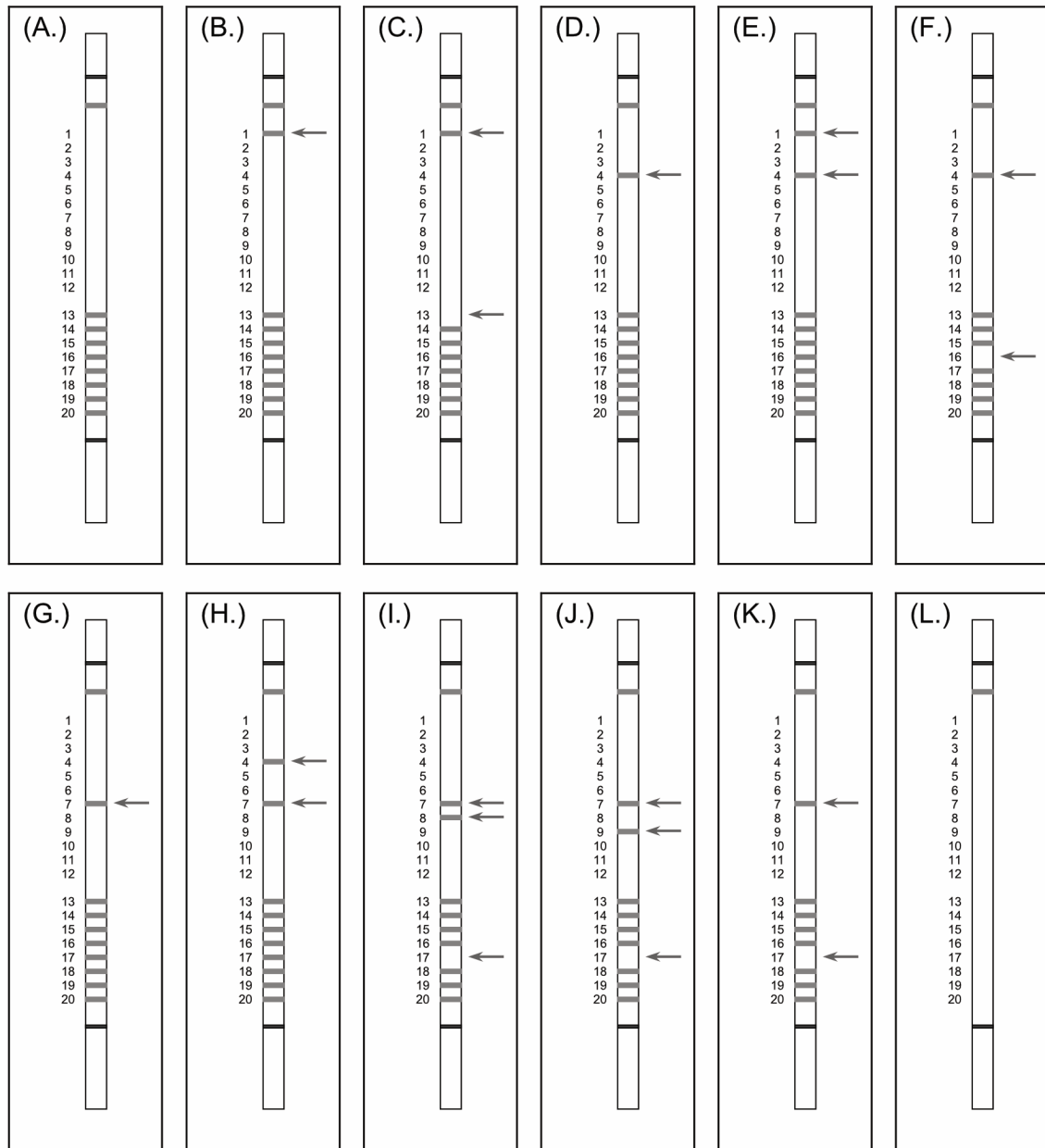



Fig. 3: Exemplos de resultados obtidos com o FMF StripAssay®

- |   |   |
|---|---|
| (A.) normal                             | (G.) M694V heterozigótico               |
| (B.) E148Q heterozigótico               | (H.) M680I (G/C) - M694V heterozigótico |
| (C.) E148Q homozigótico                 | (I.) M694V - M694I heterozigótico       |
| (D.) M680I (G/C) heterozigótico         | (J.) M694V - K695R heterozigótico       |
| (E.) E148Q - M680I (G/C) heterozigótico | (K.) M694V homozigótico                 |
| (F.) M680I (G/C) homozigótico           | (L.) controlo negativo ou falha na PCR  |

**NOTAS**

## XVII. PRODUTOS RELACIONADOS

<b>REF</b>		
4-230	FMF StripAssay®	20 testes
4-390	FMF-SAA1 StripAssay®	20 testes
CS-012	StripAssay® Detection Reagents	20 testes
CS-017	StripAssay® Detection Reagents 48	48 testes
2-014	GENXTRACT™ Blood DNA Extraction System	100 extrações
2-020	Spin Micro DNA Extraction Kit	20 extrações
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](mailto:info@viennalab.com)

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