

# FMF StripAssay<sup>®</sup>

Instrucțiuni de utilizare

**REF**



4-230	20 de teste
4-230-A	48 de teste
4-230-TRIAL	5 teste



Versiune: revizuirea 1.0/română  
Documentele eIFU și alte limbi sunt disponibile pe  
[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)

**CONȚINUT**

I.	SCOPUL UTILIZĂRII.....	4
II.	BACKGROUND.....	4
III.	METODOLOGIE.....	4
IV.	COMPONENTELE KITULUI .....	6
V.	MATERIALE NECESARE CARE NU SUNT FURNIZATE .....	7
VI.	PROCEDURA ASSAY .....	8
VII.	INTERPRETAREA REZULTATELOR.....	12
VIII.	EVALUAREA PERFORMANȚELOR.....	14
IX.	SUBSTANȚE PERTURBATOARE .....	14
X.	LIMITĂRILE TESTULUI .....	15
XI.	CONSIDERAȚII PRIVIND CALITATEA.....	15
XII.	SIGURANȚĂ .....	15
XIII.	ASISTENȚĂ TEHNICĂ.....	16
XIV.	REFERINȚE .....	16
XV.	FEEDBACK PENTRU PRODUCĂTOR.....	16
XVI.	SIMBOLURI.....	17
XVII.	EXEMPLE DE REZULTATE ALE TESTULUI .....	18
XVIII.	PRODUSE SIMILARE.....	20

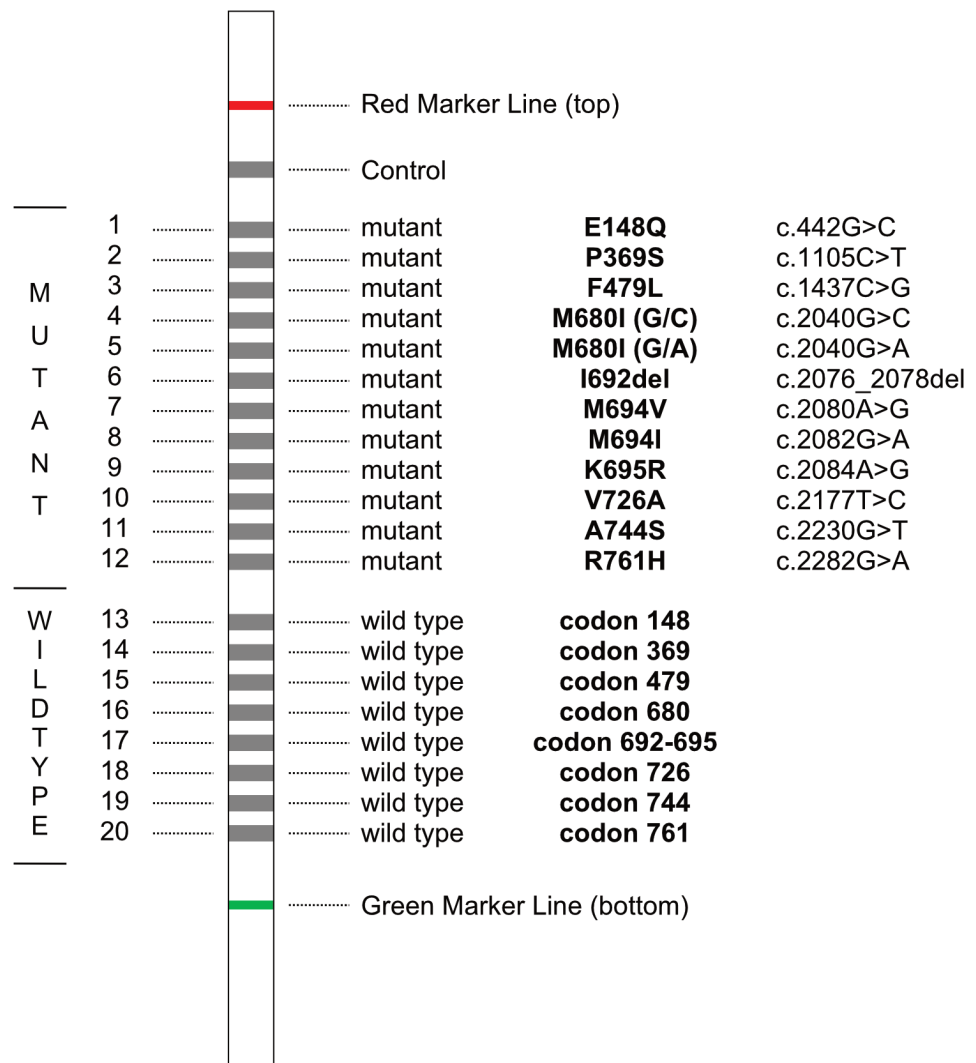
**ISTORICUL REVIZUIRILOR:**

<b>versiune</b>	<b>dată</b>	<b>descriere</b>
revizuirea 1.0	2022-11	Adăugarea unui conținut suplimentar referitor la IVDR la versiunea 2022-01.

---

---

Rezumatul siguranței și performanței (SSP, Summary of Safety and Performance) pentru StripAssay® poate fi obținut din Baza de date europeană privind dispozitivele medicale (EUDAMED): <https://ec.europa.eu/tools/eudamed> sau de la producător.



EN	RO
mutant	mutant
wildtype	tip sălbatic
control	martor
red marker line (top)	linie roșie de marcaj (sus)
green marker line (bottom)	linie verde de marcaj (jos)

**Fig. 1: Designul Teststrip**

**Notă:** Teststrips nu sunt prezentate în mărime reală și nu trebuie să fie folosite pentru interpretarea rezultatelor!

## I. SCOPUL UTILIZĂRII

FMF StripAssay® este un test genetic calitativ pentru analiza țintită a 12 mutații comune în gena *MEFV*, asociată cu febra mediteraneană familială (FMF, Familial Mediterranean Fever). Pentru testare se utilizează ADN genomic extras din probe de sânge periferic integral. FMF StripAssay® este conceput să servească drept auxiliar pentru diagnosticarea FMF la pacienții care prezintă un model de simptomatologie clinică în concordanță cu FMF sau la rudele cu risc ale unui pacient cu o mutație patogenă identificată *MEFV*. StripAssay® poate fi efectuat manual sau semi-automat.

Pentru diagnosticarea *in vitro* la oameni.

## II. BACKGROUND

FMF este cea mai frecventă afecțiune autoinflamatorie monogenă, care se caracterizează prin episoade febrile recurente, însoțite de dureri la nivelul abdomenului (peritonită), toracelui (pleurită) sau articulațiilor (artrită) și eritem cutanat asemănător erizipelului. Amiloidoza sistemică reactivă (AA) este cunoscută ca fiind principala complicație pe termen lung, cu o manifestare severă și pronostic nefavorabil. FMF are un model autosomal recesiv de transmitere genetică în majoritatea cazurilor și este observată în principal la pacienții din populații mediteraneene sau din Orientul Mijlociu. Variante multiple în cadrul genei febrei mediteraneene (*MEFV*, *Mediterranean fever*) au fost descrise ca defecte moleculare care cauzează FMF. Gena *MEFV* însăși este localizată pe cromozomul 16p13.3 și cuprinde 10 exoni, care codifică o proteină de 781 de aminoacizi cunoscută sub numele de pirină. Reprezentarea clinică a FMF poate fi complexă, astfel că testarea genetică pentru mutațiile *MEFV* constituie o modalitate fezabilă de a corobora diagnosticul.

## III. METODOLOGIE

FMF StripAssay® se bazează pe reacția în lanț a polimerazei (PCR, polymerase chain reaction) și pe hibridizarea inversă. Procedura include trei pași: (1) Izolarea ADN-ului, (2) amplificarea PCR folosind primeri biotinilați, (3) hibridizarea produselor de amplificare pe un Teststrip care conține mostre oligonucleotidice alele specifice, imobilizate ca o matrice de linii paralele (Fig. 1). Secvențele biotinite legate sunt detectate folosind streptavidină-fosfatază alcalină și substraturi colorate.

Testul FMF StripAssay® detectează următoarele mutații în locusul genei *MEFV*:

	nume moștenire	Nomenclator 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

Secvență de referință (RefSeq, Reference Sequence):



NM\_000243.2

NG\_007871.1

Testul poate fi efectuat manual sau semi-automat cu ajutorul unor instrumente concepute pentru automatizarea procesării Teststrips (consultați secțiunea VI. 3.4).

IV. COMPONENTELE KITULUI

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>capac galben</i> )	500 µl	2 x 500 µl	500 µl
4. Taq Dilution Buffer ( <i>capac transparent</i> )	500 µl	500 µl	500 µl
5. Taq DNA Polymerase (5 U/µl) ( <i>capac roşu</i> )	75 U	125 U	75 U
6. DNAT ( <i>capac albastru</i> )	1,5 ml	1,5 ml	1,5 ml
<p> <b>Atenție:</b> DNAT conține 1,6 % NaOH                      H315: Provoacă iritarea pielii                      H319: Provoacă iritarea gravă a ochilor                      P280: Purtați mănuși de protecție/îmbrăcăminte de protecție/protecție pentru ochi/protecție pentru față                      P337 + P313: Dacă iritația ochilor persistă: Solicitați asistență medicală</p>			
7. Typing Trays	3	---	1
8. Teststrips	20	2 x 24	5
9. Hybridization Buffer ( <i>capac alb</i> )	25 ml	65 ml	25 ml
10. Wash Solution A ( <i>capac alb</i> )	80 ml	200 ml	80 ml
11. Conjugate Solution ( <i>capac transparent</i> )	25 ml	65 ml	25 ml
12. Wash Solution B ( <i>capac transparent</i> )	80 ml	200 ml	80 ml
13. Color Developer ( <i>capac maro</i> )	25 ml	65 ml	25 ml
<p> <b>Atenție:</b> Color Developer conține ≤ 0,4% acid maleic                      H317: Poate provoca o reacție alergică a pielii                      P280: Purtați mănuși de protecție/îmbrăcăminte de protecție/protecție pentru ochi/protecție pentru față                      P302 + P352: În caz de contact cu pielea: spălați cu multă apă                      P333 + P313: Dacă apar iritații sau erupții cutanate: solicitați asistență medicală</p>			
14. Instrucțiuni de utilizare	1	1	1
15. Collector™ Sheet	1	3	1

**Notă:** Depozitați toți reactivii la o temperatură cuprinsă între 2 °C și 8 °C atunci când nu sunt utilizați!

numele compusului	compoziția
Lysis Solution	soluție hipotonică conținând KHCO <sub>3</sub> , NH <sub>4</sub> Cl, EDTA
GENXTRACT™ Resin	Chelex 100 Resin MB într-o soluție tampon
Amplification Mix	oligonucleotide marcate cu 5'-biotină specifică secvenței, un amestec echimolar de trifosfați deoxi ribonucleotide (dATP, dCTP, dGTP și dTTP), tampon de sulfat de amoniu, glicerol, 0,05% azidă de sodiu
Taq Dilution Buffer	tampon pentru taq DNA polymerase, inclusiv (NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> și MgCl <sub>2</sub> , 0,05% azidă de sodiu
Taq DNA Polymerase (5 U/µl)	taq DNA polymerase cu o concentrație de 5U/µl
DNAT	soluție bazică ce conține 1,6 % hidroxid de sodiu și un colorant albastru care indică o modificare a pH-ului
Typing Trays	tavă de plastic cu opt godeuri

numele compusului	compoziția
Teststrips	sonde oligonucleotide specifice alelei și un martor de hibridizare imobilizate sub formă de o serie de linii paralele pe o membrană pe suport de poliester încadrată de o linie roșie în partea superioară și de o linie verde în partea inferioară
Hybridization Buffer	tampon fosfat cu <2% detergent
Wash Solution A	tampon citrat cu <1% detergent
Conjugate Solution	fosfatază alcalină conjugată cu streptavidină diluată într-un tampon pe bază de soluție salină cu 0,05% azidă de sodiu
Wash Solution B	tampon Tris conținând <2% detergent și 0,05% azidă de sodiu
Color Developer	substratul de culoare pentru fosfataza alcalină conține nitrobluetetrazolium (NBT, nitro blue tetrazolium) și 5-bromo-4-cloro-3-indolil fosfat (BCIP, 5-bromo-4-chloro-3-indolyl phosphate).
Instrucțiuni de utilizare	hârtie tipărită
Collector™ Sheet	hârtie tipărită

## V. MATERIALE NECESARE CARE NU SUNT FURNIZATE

Pe lângă echipamentul standard al unui laborator de biologie moleculară, sunt necesare următoarele:

- Termobloc sau termomixer pentru tuburi de reacție de 1,5 ml cu control al temperaturii de până la 99 °C
- Microcentrifugă reglabilă cu viteze de rotație de 3.000-12.000 rpm (1.000-12.000 x g)
- Termociclor cu capac încălzit (pentru specificațiile privind ratele de rampă, consultați secțiunea VIII)
- Baie de apă cu platformă de agitare, capac și temperatură reglabilă (45 °C ± 1 °C)
- Agitator (balansoar sau agitator orbital)

### Opțional:

- Aparat de aspirație prin vacuum
- Agitator termic pentru plăci de microtitrare cu capac și temperatură reglabilă (45 °C ± 1 °C), de exemplu PST-60 HL (Biosan) sau un dispozitiv echivalent
- Instrument pentru hibridizare automată, reglabil în funcție de profilul timp-temperatură, după cum este descris în secțiunea VI. 3.4, DYNABLOT Heat (Dynex) sau un dispozitiv echivalent
- Echipament de electroforeză pe gel de agaroză (pentru controlul produselor de amplificare)

## VI. PROCEDURA ASSAY

### 1. Pregătirea mostrelor

**Specimen:** Utilizați sânge proaspăt sau congelat cu anticoagulant EDTA. Sângele care conține heparină sau citrat nu a fost testat. Nu depozitați sângele mai mult de 3 zile la temperatura ambiantă sau mai mult de 1 săptămână la o temperatură cuprinsă între 2 °C și 8 °C înainte de utilizare. Sângele care a fost păstrat congelat mai mult de un an sau care a trecut prin mai mult de trei cicluri de congelare-dezcongelare nu se utilizează. Pentru recoltarea și transportul specimenului, urmați instrucțiunile de utilizare a tubului de recoltare a sângelui EDTA și recomandările generale pentru prelevarea sângelui.

**Extragerea ADN-ului:** Aduceți probele de sânge la temperatura camerei. Amestecați bine răsturnând cu atenție de mai multe ori tuburile de recoltare a sângelui. Lăsați Lysis Solution și GENXTRACT™ Resin să ajungă la temperatura camerei.

- Pipetați **100 µl de probă de sânge** într-un microtub de 1,5 ml cu capac filetat.
- Adăugați **1 ml de Lysis Solution**, închideți tubul și amestecați prin răsturnare de mai multe ori.
- Lăsați soluția să stea **15 min.** la temperatura camerei.
- Centrifugați timp de **5 min.** la **3.000 rpm** (aprox. 1.000 x g) într-o microcentrifugă.
- Eliminați și aruncați din partea superioară (de sus) 1 ml de supernatant.
- Adăugați **1 ml de Lysis Solution**, închideți tubul și amestecați prin răsturnare de mai multe ori.
- Centrifugați timp de **5 min.** la **12.000 rpm** (aprox. 12.000 x g) într-o microcentrifugă.
- Eliminați și aruncați supernatantul, cu excepția a aproximativ 50 µl de pelete vizibile și moi.
- Creați din nou suspensia GENXTRACT™ Resin prin agitarea suficientă a flaconului.
- Adăugați **200 µl GENXTRACT™ Resin** la peletă. Închideți tubul și amestecați în vortex timp de 10 secunde.

**Notă:** GENXTRACT™ Resin se sedimentează rapid. Repetați procesul de creare a suspensiei de fiecare dată, imediat înainte de a extrage o altă parte alicotă.

- Incubați timp de **20 min.** la **56 °C**. Amestecați prin vortex 10 sec.
- Incubați timp de **10 min.** la **98 °C**. Amestecați prin vortex 10 sec.
- Centrifugați timp de **5 min.** la **12.000 rpm** într-o microcentrifugă. Răciți în gheață.

Supernatantul rezultat conține un șablon de ADN care poate fi utilizat imediat în PCR. Pentru păstrarea ulterioară, supernatantul trebuie transferat într-un tub nou și păstrat la frigider (între 2 °C și 8 °C, maximum o săptămână) sau congelat la -30 °C până la -15 °C (pe termen lung).

Utilizarea altor metode de izolare a ADN-ului cu FMF StripAssay® nu a fost validată. În cazul în care se utilizează alte sisteme de extracție a ADN-ului, concentrația și puritatea ADN-ului trebuie să fie cuprinse între 2 și 10 ng/µl și un raport OD<sub>A260/280</sub> de 1,7 la 2,0. Concentrațiile mai mari de ADN trebuie să fie diluate până la intervalul recomandat, înainte de introducerea PCR.

## 2. Amplificare in vitro (PCR)

**Important:** Păstrați toți reactivii PCR și toate șabloanele de ADN refrigerate pe tot parcursul procesului.

- Preparați proaspăt de fiecare dată o cantitate adecvată de soluție de lucru (1:25, concentrație finală. 0,2 U/μl) de **Taq DNA Polymerase** (5 U/μl, capac roșu) în **Taq Dilution Buffer** (capac transparent) pentru numărul de probe care vor fi analizate, plus o **probă fără șablon** (NTC, no-template control).

compus	pe reacție	de ex., 10 reacții
Taq DNA Polymerase (5 U/μl)	0,2 μl	2 μl
Taq Dilution Buffer	4,8 μl	48 μl
soluție de lucru	5 μl	50 μl

- Pregătiți un tub de reacție pentru fiecare probă care va fi amplificată. Plasați tuburile pe gheață.
- Pentru fiecare probă pregătiți un amestec final de reacție PCR pe gheață:  
**15 μl Amplification Mix** (capac galben)  
**5 μl Taq DNA Polymerase diluat** (1U)  
**5 μl șablon ADN**

**Notă:** Este recomandat să pregătiți un amestec principal pentru toate probele, care să conțină un Amplification Mix și Taq DNA Polymerase diluată. Pipetați mai întâi 20 μl de amestec principal în fiecare tub PCR, apoi adăugați șablonul ADN. Includeți un NTC în fiecare serie, utilizând apă de calitate PCR în loc de ADN (sau, de preferință, martorul negativ al extracției de ADN).

În general, pregătiți soluțiile de lucru/amestecul principal cu un exces de volum de 10 % pentru a compensa inexactitățile de pipetare.

- Închideți bine tuburile. Preîncălziți termociclorul la 94 °C.
- Introduceți tuburile de reacție executați următorul program de termociclare:  
**pre-PCR: 94 °C/2 min.**  
**termociclare: 94 °C/15 sec. – 58 °C/30 sec. – 72 °C/30 sec. (35 de cicluri)**  
**extinderea finală: 72 °C/3 min.**
- Depozitați produsele de amplificare la gheață sau la o temperatură cuprinsă între 2 °C și 8 °C pentru utilizare ulterioară.

**Opțional:** Analizați produsele de amplificare prin electroforeză pe gel (de exemplu, gel de agaroză 3%).

Lungimile fragmentelor: 206, 236, 295, 318 bp

### 3. Procesarea Teststrips

#### 3.1. Hibridizare (manuală) – 1 Teststrip pentru fiecare probă (45 °C, baie de apă cu agitare)

**Important:** Reglați nivelul apei din baia de apă la aproximativ ½ din înălțimea Typing Tray. Încălziți baia de apă la exact 45 °C. Verificați temperatura apei cu un termometru calibrat. Preîncălziți Hybridization Buffer și Wash Solution A la 45 °C. Aveți grijă ca toate precipitatele formate la 2 °C – 8 °C să se dizolve complet. Lăsați Teststrips, DNAT, Conjugate Solution, Wash Solution B și Color Developer să ajungă la temperatura camerei. Preparați Typing Trays.

Îndepărtați câte un Teststrip pentru fiecare probă, folosind o pensetă curată. Atingeți Teststrips doar cu mânuși fără pudră! Etichetați Teststrips în afara liniilor de marcaj cu un creion (fără pixuri, markere etc.).

- Pipetați **10 µl DNAT** (capac albastru) în colțul inferior al fiecărui culoar care urmează să fie utilizat în Typing Trays (un culoar pentru fiecare probă).
- Adăugați **10 µl de produs de amplificare** în picătura corespunzătoare de DNAT.
- Amestecați bine cu o pipetă. (Soluția va rămâne albastră.)
- Lăsați soluția să stea **5 min.** la temperatura camerei.
- Adăugați **1 ml Hybridization Buffer** (preîncălzit la 45 °C) în fiecare culoar. Agitați ușor tava. (Culoarea albastră va dispărea.)
- Introduceți **Teststrips** cu partea marcată în sus (liniile vizibile!) în culoarele respective. Scufundați complet.
- Incubați timp de **30 min.** la **45 °C** pe platforma de agitare a băii de apă.

Setați o frecvență de agitare moderată (aprox. 50 rpm) pentru a evita vărsarea. Lăsați capacul băii de apă închis pentru a evita variațiile de temperatură.

- La sfârșitul incubării, eliminați soluțiile de hibridizare prin aspirare cu vacuum sau prin pipetare.

Procedați imediat. Nu lăsați Teststrips să se usuce în timpul întregii proceduri.

#### 3.2. Spălare riguroasă (45 °C, baie de apă cu agitare)

- Adăugați **1 ml de Wash Solution A** (preîncălzită la 45 °C). Clătiți puțin (10 sec.). Îndepărtați lichidele prin aspirare sau pipetare.
- Adăugați **1 ml de Wash Solution A** (45 °C).
- Incubați timp de **15 min.** la **45 °C** în baia de apă cu agitare. Îndepărtați lichidele prin aspirare sau pipetare.
- Adăugați **1 ml de Wash Solution A** (45 °C).
- Incubați timp de **15 min.** la **45 °C** în baia de apă cu agitare. Îndepărtați lichidele prin aspirare sau pipetare.

### 3.3. Detecția colorimetrică (la temperatura camerei, 22 °C ± 3 °C)

- Adăugați **1 ml de Conjugate Solution**.
- Incubați timp de **15 min.** la **temperatura camerei** pe un balansoar sau un agitator orbital.  
Îndepărtați lichidele prin aspirare sau pipetare.
- Adăugați **1 ml de Wash Solution B**. Clătiți puțin (10 sec.).  
Îndepărtați lichidele prin aspirare sau pipetare.
- Adăugați **1 ml de Wash Solution B**.
- Incubați timp de **5 min.** la **temperatura camerei** pe un balansoar sau un agitator orbital.  
Îndepărtați lichidele prin aspirare sau pipetare.
- Adăugați **1 ml de Wash Solution B**.
- Incubați timp de **5 min.** la **temperatura camerei** pe un balansoar sau un agitator orbital.  
Îndepărtați lichidele prin aspirare sau pipetare.
- Adăugați **1 ml de Color Developer**.
- Incubați timp de **15 min.** la **temperatura camerei** în întuneric pe un balansoar sau un agitator orbital.  
În cazul unei reacții pozitive va apărea o colorație purpurie.
- Spălați Teststrips de mai multe ori cu apă distilată.  
Lăsați benzile să se usuce la întuneric pe o hârtie absorbantă.

Nu expuneți Teststrips la lumină puternică după dezvoltarea culorilor.

### 3.4. Hibridizarea (automată) – opțională în loc de utilizarea băii de apă și agitatorului.

Un instrument pentru prelucrarea automată a Teststrips trebuie să îndeplinească următoarele cerințe:

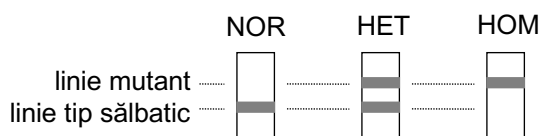
- Profilul programabil de timp și temperatură trebuie să corespundă cu secțiunea 3.1 din 3.3 procedura StripAssay®.
- Stație integrată de preîncălzire pentru Hybridization Buffer și Wash Solution A.
- Controlul temperaturii tăvilor în timpul etapelor de hibridizare și spălare riguroasă la 45 °C ± 1 °C.
- Sistem activ de răcire a tăvii pentru a asigura o scădere rapidă a temperaturii în etapele de detecție colorimetrică la temperatura camerei.
- Posibilitate de agitare a tăvii.
- Capac încălzit al tăvii pentru a se evita evaporarea reactivilor în timpul incubării.
- Distribuirea unor volume definite de reactivi.
- Aspirarea reactivilor.
- În funcție de instrumentul utilizat și de numărul de probe procesate într-o singură serie, pot fi necesari reactivi suplimentari. Sunt disponibili reactivi de detecție StripAssay® Detection Reagents suplimentari pentru 20 de teste (REF CS-012) și 48 de teste (REF CS-017).

## VII. INTERPRETAREA REZULTATELOR

Genotipul unei probe se determină cu ajutorul Collector™ Sheet anexate. Puneți Teststrip prelucrat într-unul din câmpurile desemnate, aliniați-l la desenul schematic folosind linia de marcă roșie (sus) și linia de marcă verde (jos) și fixați-l cu bandă adezivă.

O reacție pozitivă a liniei de control din partea superioară indică funcționarea corectă a Conjugate Solution și a Color Developer. Această linie trebuie să se coloreze întotdeauna pozitiv.

Pentru fiecare poziție polimorfă, trebuie să se obțină unul dintre următoarele modele de colorare (Fig. 2):



**Fig. 2: Genotipuri – modele de colorare pe Teststrips**

	linie tip sălbatic	linie mutant	genotip
NOR	<b>pozitiv</b>	negativ	normal
HET	<b>pozitiv</b>	<b>pozitiv</b>	heterozigot
HOM	negativ	<b>pozitiv</b>	mutant homozigot

**Notă:** Intensitatea de colorare a liniilor pozitive poate varia. Acest lucru nu are nicio importanță pentru rezultat.

**Vedeți exemplele de rezultate** pentru StripAssay®, la pagina 18 (Fig. 3).

Unele dintre mutațiile acoperite de FMF StripAssay® sunt localizate în câteva dintre nucleotidele de pe gena *MEFV*. Pe Teststrips, acestea sunt reprezentate de o sondă comună de tip natural, astfel încât cele 12 de mutații sunt acoperite doar de 8 sonde de tip natural:

linie	probă tip natural	mutație
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

Probele care sunt heterozigote compuse pentru două dintre aceste mutații (de exemplu, M694V+ M694I sau M694V + K695R) vor fi lipsite de semnalul comun de tip natural (a se vedea exemplele I și J, pagina 18).

Ca în cazul oricărui test de diagnosticare, rezultatele FMF StripAssay® trebuie interpretate în contextul fenotipului clinic general al pacientului și al altor investigații medicale de care dispune medicul. ViennaLab Diagnostics GmbH nu este responsabilă pentru nicio decizie clinică care este luată.

## VIII. EVALUAREA PERFORMANTELOR

**Acuratețea** FMF StripAssay® a fost determinată prin analizarea a 173 de probe pretipate de ADN genomic. Rezultatele au fost în deplină concordanță cu metoda de referință (secvențierea Sanger, electroforeza în gel în gradient denaturant (DGGE, denaturing gradient gel electrophoresis) și polimorfismul de lungime a fragmentelor de restricție (RFLP, restriction fragment length polymorphism). Testul a detectat corect 251 de alele mutante (= 100 % acord procentual pozitiv) și 103 de alele de tip natural (= 100 % acord procentual negativ).

**Precizia** FMF StripAssay® a fost evaluată ca variabilitate între replici, operatori, zile, loturi de reactivi, termocicloare și dispozitive de hibridare (hibridare manuală și semiautomată). Dintr-un total de 106 teste efectuate în conformitate cu parametrii investigați, toate testele au avut rezultatele de genotipare așteptate. Au fost vizibile doar diferențe neglijabile în ceea ce privește intensitatea de colorare a Teststrips și nu s-a observat nicio colorare de fond. FMF StripAssay® a fost validat pe AB GeneAmp® PCR System 2700, AB GeneAmp® PCR System 9700, AB Veriti și MJ Research PTC-200, care prezintă împreună o rată de încălzire și răcire în intervalul 1,7 - 4,2 °C/sec și, respectiv, 1,4 - 3,7 °C/sec.

Utilizarea altor termocicloare trebuie verificată de către utilizator.

**Specificitatea analitică** este asigurată în primul rând prin selectarea primerilor specifici pentru fiecare genă și a sondelor de captură specifice pentru fiecare alelă, precum și prin selectarea unor condiții de reacție riguroase. Primerii și sondele au fost verificate pentru posibile omologii cu toate secvențele publicate în bazele de date genetice prin analiza de comparare a secvențelor. Astfel, a fost asigurată detectabilitatea tuturor genotipurilor relevante. Potențiala reactivitate încrucișată între sondele de captură a fost verificată cu ajutorul ADN-ului sintetic care conține fragmentul genetic respectiv. Nu s-a observat nicio reactivitate încrucișată.

**Performanțele clinice:** Evaluarea performanțelor clinice ale FMF StripAssay® pentru a susține dovezile clinice a inclus o analiză sistematică a datelor disponibile și a elementelor aplicabile. Ca urmare a căutării în literatura de specialitate, au fost identificate 22 de publicații referitoare la siguranța și performanța FMF StripAssay®, care demonstrează utilitatea clinică a FMF StripAssay®. Nu au fost identificate evenimente adverse sau abateri în cadrul studiilor de comparare a metodelor. În concluzie, performanțele clinice, avantajele și siguranța oferite de FMF StripAssay® sunt confirmate atunci când dispozitivul este utilizat conform destinației pentru diagnosticul de febră mediteraneană familială.

## IX. SUBSTANȚE PERTURBATOARE

Au fost testate cinci substanțe perturbatoare (hemoglobină, imunoglobulină G, urme de sânge, etanol și EDTA) care ar putea fi prezente în preparatele de ADN derivate din sânge cu EDTA. Efectele acestora asupra PCR au fost evaluate în trei probe de ADN purificat îmbogățite cu diferite concentrații de substanțe și comparate cu martorii acestora fără adaos de substanțe perturbatoare. Toate probele au fost analizate în trei exemplare.

La o concentrație finală de <10 μM de hemoglobină, 0,1 μM de imunoglobulină G, <1% sânge periferic, 1,25% etanol sau 0,1 mM EDTA în reacție nu au influențat performanțele StripAssay®.

## X. LIMITĂRILE TESTULUI

FMF StripAssay® este conceput exclusiv pentru diagnosticarea a 12 mutații cunoscute, așa cum este prezentat în secțiunea III, care sunt reprezentate de sonde de captare specifice alelei de pe Teststrips. Nu pot fi detectate alte mutații *MEFV* care pot fi prezente în proba unui pacient.

Variantele rare sau individuale din cadrul primerilor și a situsurilor de conectare a sondelor pot cauza eșecuri de amplificare și lipsa semnalelor pe Teststrip.

Probele de ADN obținute prin alte metode decât reactivii și protocolul furnizate împreună cu FMF StripAssay® pot, în unele cazuri, să prezinte semnale slabe sau lipsă pentru tipul natural și mutantul E148Q. Efectul se datorează diminuării eficienței PCR pentru acest fragment special și a fost observat cu mai multe kituri populare de extracție a ADN-ului. Preîncălzirea acestor probe de ADN la 98 °C timp de 10 minute, urmată imediat de o răcire la gheață sau într-un bloc rece înainte de a pregăti PCR, poate restabili complet randamentul normal al PCR.

FMF StripAssay® este destinat exclusiv utilizării în laborator de către profesioniști.

## XI. CONSIDERAȚII PRIVIND CALITATEA

- Pentru a obține rezultate relevante, este necesară o înțelegere aprofundată a procedurii descrise aici, tehnici standard de laborator și echipamente adecvate.
- Nu utilizați kiturile StripAssay® după data de expirare.
- După prima deschidere a recipientului primar, reactivii StripAssay® sunt stabili până la data de expirare imprimată pe eticheta exterioară a kitului, dacă sunt depozitați corespunzător la o temperatură cuprinsă între 2 °C și 8 °C.
- Utilizați vârfuri de pipetă sterile și de unică folosință cu filtre pentru a evita contaminarea microbiană și contaminarea încrucișată a reactivilor sau a probelor. Nu schimbați între ele capacele flacoanelor.
- Doar pentru o singură utilizare.

## XII. SIGURANȚĂ

- Nu beți, nu mâncați, nu fumați și nu utilizați produse cosmetice în zonele de lucru desemnate. Purtați halate de laborator și mănuși de unică folosință atunci când manipulați probele și reactivii din kit. Spălați-vă bine pe mâini după aceea.
- Manipulați probele ca și cum ar putea transmite agenți infecțioși. Curățați și dezinfecțați corespunzător toate materialele și suprafețele care au fost în contact cu probele. Aruncați toate deșeurile asociate cu probele clinice într-un container pentru deșeurii cu risc biologic.
- Evitați contactul DNAT și Color Developer cu pielea, ochii sau membranele mucoase. În caz de contact, spălați imediat cu cantități mari de apă. Dacă se varsă, diluați cu apă înainte de a șterge.
- Respectați toate reglementările locale și federale privind siguranța și mediul care se pot aplica.

### **XIII. ASISTENȚĂ TEHNICĂ**

Puteți obține asistență tehnică:

- de la distribuitorul local ViennaLab Diagnostics ([www.viennalab.com/distribution](http://www.viennalab.com/distribution))
- din tutorialele video ([www.viennalab.com/support](http://www.viennalab.com/support))
- din manualul StripAssay® ([www.viennalab.com/support](http://www.viennalab.com/support))
- din Manualul de depanare (Troubleshooting Guide) StripAssay® ([www.viennalab.com/support](http://www.viennalab.com/support))
- contactând [techhelp@viennalab.com](mailto:techhelp@viennalab.com)












### **XIV. REFERINȚE**

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

### **XV. FEEDBACK PENTRU PRODUCĂTOR**

Orice incident grav care a avut loc în legătură cu StripAssay® trebuie raportat autorității competente din țara respectivă și producătorului.

**XVI. SIMBOLURI**

	Număr catalog
	Cod lot
	Dispozitiv medical de diagnosticare <i>in vitro</i>
	Respectă Regulamentul Parlamentului European 2017/746 privind IVD
0123	Numărul de identificare al organismului notificat
	Suficient pentru <n> teste
	Limite temperatură de depozitare
	Utilizat de
	Atenție
	Producător
	Data fabricației
	Consultați instrucțiunile de utilizare

XVII. EXEMPLE DE REZULTATE ALE TESTULUI

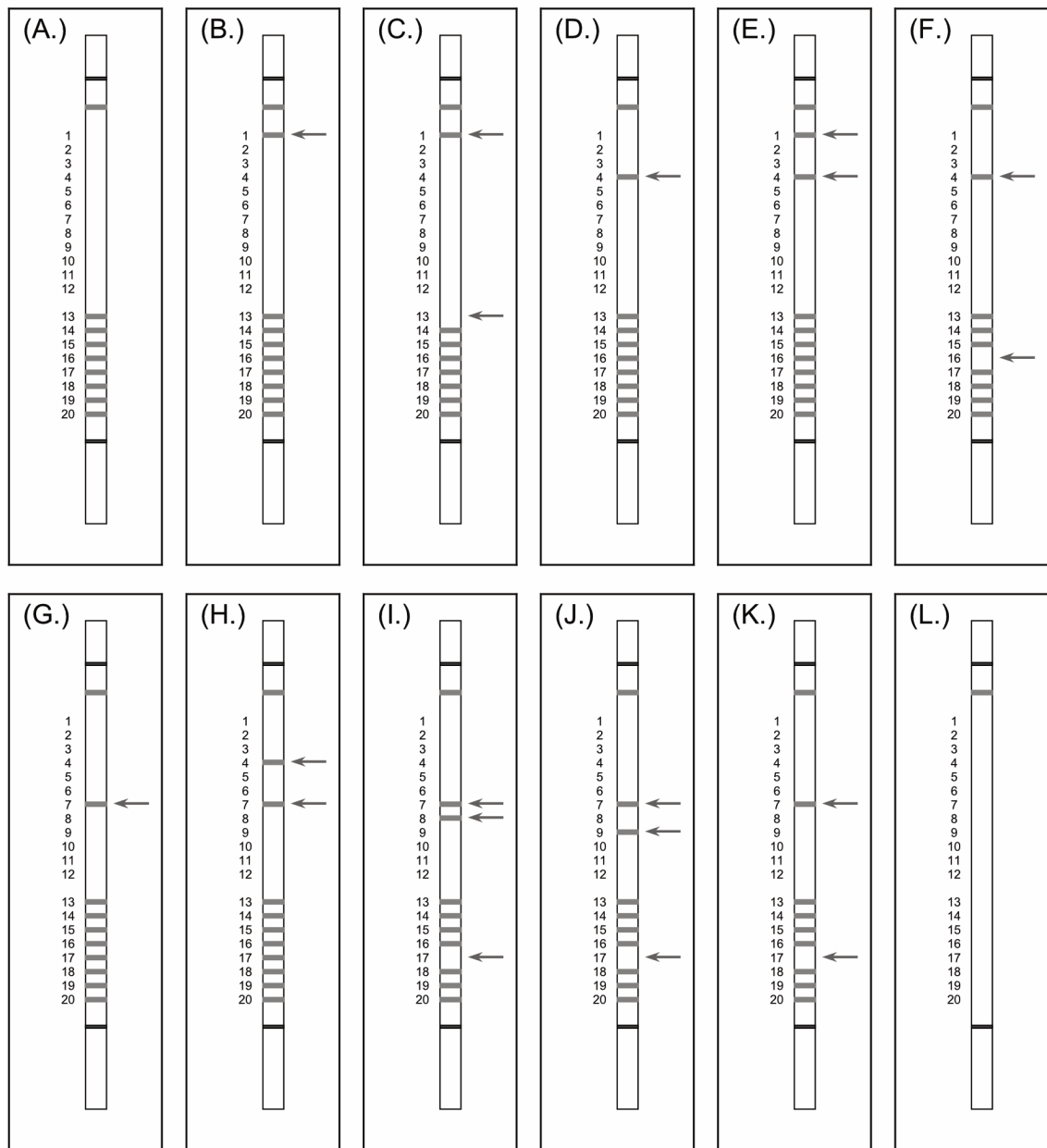



Fig. 3: Exemple de rezultate obținute cu the FMF StripAssay®

- |                                      |                                      |
|--------------------------------------|--------------------------------------|
| (A.) normal                          | (G.) M694V heterozigot               |
| (B.) E148Q heterozigot               | (H.) M680I (G/C) – M694V heterozigot |
| (C.) E148Q homozigot                 | (I.) M694V – M694I heterozigot       |
| (D.) M680I (G/C) heterozigot         | (J.) M694V – K695R heterozigot       |
| (E.) E148Q – M680I (G/C) heterozigot | (K.) M694V homozigot                 |
| (F.) M680I (G/C) homozigot           | (L.) martor negativ sau eșec PCR     |

**NOTE**

## XVIII. PRODUSE SIMILARE

<b>REF</b>		
4-230	FMF StripAssay®	20 de teste
4-390	FMF-SAA1 StripAssay®	20 de teste
CS-012	StripAssay® Detection Reagents	20 de teste
CS-017	StripAssay® Detection Reagents 48	48 de teste
2-014	GENXTRACT™ Blood DNA Extraction System	100 de extracții
2-020	Spin Micro DNA Extraction Kit	20 de extracții
6-080	Typing Trays	5

**Distribuitor:**

 **Producător:**

 **ViennaLab®**

**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)