

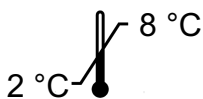
α -Globin StripAssay[®]

Használati útmutató

REF



4-160	10 vizsgálat
4-160-A	24 vizsgálat
4-160-TRIAL	5 vizsgálat



IVD



Verzió: 1.3 / magyar
Az eIFU és a használati útmutató más
nyelveken elérhető a következő oldalon:
www.viennalab.com

CE 0123



ViennaLab Diagnostics GmbH

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

t: +43 1 8120156-0

e: info@viennalab.com

w: www.viennalab.com

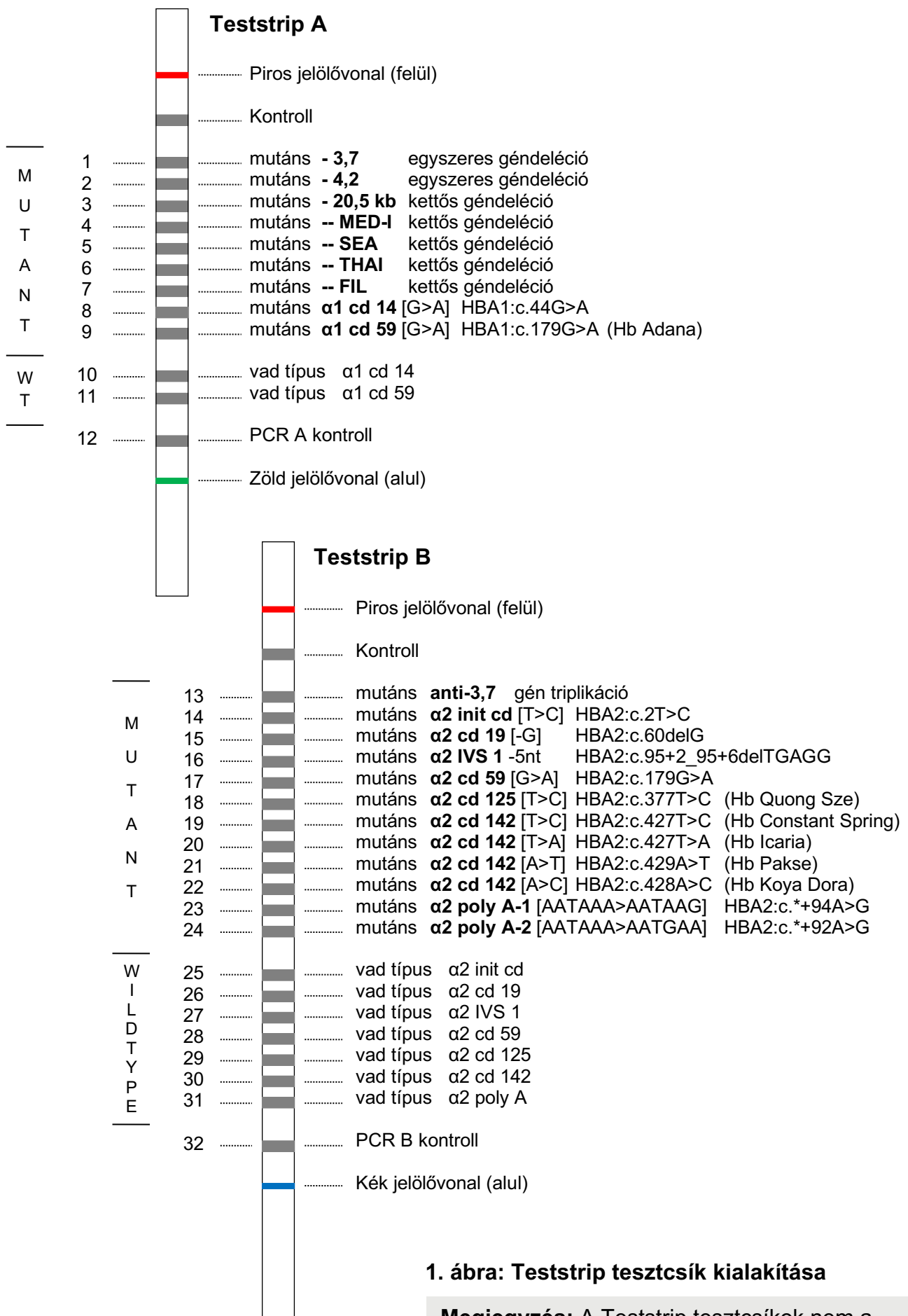
TARTALOMJEGYZÉK

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 KORLATAI	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
1.1. verzió	2022-02	CE-jelölés a bejelentett szervezet azonosítószámával; hivatkozás az SSP-re; nyilatkozat a mintaforrásról és a manuális/félig automatizált használatról (I); a készlet összetevőinek specifikációja (IV); klinikai teljesítőképességi adatok (VIII)
1.2. verzió	2022-05	A kibocsátás dátuma, hivatkozás az elektronikus használati útmutatóra (eIFU), Irán (II) hozzáadása
1.3. verzió	2022-11	Az ábrák jobb elrendezése és felbontása

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.



1. ábra: Teststrip tesztcsík kialakítása

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

I. RENDELTETÉS

Az α -Globin StripAssay[®] egy kvalitatív genetikai teszt a *hemoglobin alfa 1 alegység (HBA1, hemoglobin subunit alpha 1)* és *alfa 2 alegység (HBA2, hemoglobin subunit alpha 2)* gének 21 gyakori nagy deléciójának és pontmutációjának célzott elemzésére emberi perifériás vérből izolált DNS-ben. A tesztet az alfa-talasszémia (alfa-thal) gyanújának genetikai megerősítésére használják. A vizsgálat továbbá használható a talasszémia hordozói státusz szűrésére a beteg rokonainál és az általános populációban. A StripAssay[®] manuálisan vagy félautomata rendszerben is elvégezhető.

Humán *in vitro* diagnosztikai felhasználásra.

II. HÁTTÉR

Az *alfa-globin* gének mutációi az alfa-talasszémia genetikai okai. Ez egy autoszomális recesszíven öröklődő rendellenesség, amelyet az alfa-globin lánc elégtelen vagy hiányzó termelődése jellemez, ami az érintett allélok számától függően változó klinikai képet eredményez.

A mikrocitás vérszegénység jellegzetes hematológiai értékeivel és a megfelelő hemoglobinmintázattal rendelkező betegeket, az érintett beteg családtagjait, a leendő szülőket, valamint a magas kockázatú populációkból (pl. a mediterrán térségből, Afrikából, az Arab-félszigetről, Iránból, Indiából és Délkelet-Ázsiából) származó, az alfa-talasszémia hordozóinak kockázatának kitett személyeket kell megvizsgálni.

III. MÓDSZEREK

Az α -Globin 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 α-Globin StripAssay® az *alfa-globin* génlókuszban a következő mutációkat mutatja ki:

eredeti név	HGVS-nómenklatúra	RefSNP
1 -3,7 kb	NG_000006.1:g.34164_37967del3804	--
2 -4,2 kb	n.a.	--
3 --20,5 kb	NG_000006.1:g.15164_37864del22701	--
4 --MED-I	NG_000006.1:g.24664_41064del16401	--
5 --SEA	NG_000006.1:g.26264_45564del19301	--
6 --THAI	NG_000006.1:g.10664_44164del33501	--
7 --FIL	NG_000006.1:g.11684_43534del31851	--
8 anti-3,7 gén triplikáció	n.a.	--
9 cd 14 [G>A]	HBA1:c.44G>A	rs63750090
10 cd 59 [G>A] Hb Adana	HBA1:c.179G>A	rs28928878
11 iniciáció cd [T>C]	HBA2:c.2T>C	rs111033603
12 cd 19 [-G]	HBA2:c.60delG	rs886041399
13 IVS1-5nt	HBA2:c.95+2_95+6delTGAGG	rs41474145
14 cd 59 [G>A]	HBA2:c.179G>A	rs281864846
15 cd 125 [T>C] Hb Quong Sze	HBA2:c.377T>C	rs41397847
16 cd 142 [T>C] Hb Constant Spring	HBA2:c.427T>C	rs41464951
17 cd 142 [T>A] Hb Icaria	HBA2:c.427T>A	rs41464951
18 cd 142 [A>T] Hb Pakse	HBA2:c.429A>T	rs41412046
19 cd 142 [A>C] Hb Koya Dora	HBA2:c.428A>C	rs41321345
20 polyA-1 [AATAAA>AATAAG]	HBA2:c.*+94A>G	rs63751269
21 polyA-2 [AATAAA>AATGAA]	HBA2:c.*+92A>G	rs63750067

Referenciaszekvencia (RefSeq, Reference Sequence):

NG_000006.1



NM_000558.3 (HBA1)

NM_000517.4 (HBA2)

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

	4-160	4-160-A	4-160 -TRIAL
1a. Amplification Mix A1 (sárga kupak)	250 µl	2 × 250 µl	250 µl
1b. Amplification Mix A2 (fehér kupak)	250 µl	2 × 250 µl	250 µl
1c. Amplification Mix B (zöld kupak)	250 µl	2 × 250 µl	250 µl
2. Taq Dilution Buffer (átlátszó kupak)	500 µl	500 µl	500 µl
3. HS-Taq DNA Polymerase (5 E/µl) (piros kupak)	125 E	175 E	125 E
4. 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>			
5. Typing Trays	3	---	2
6a. Teststrip A tesztcsíkok (fekete kupak)	10	24	5
6b. Teststrip B tesztcsíkok (fehér kupak)	10	24	5
7. Hybridization Buffer (fehér kupak)	25 ml	65 ml	25 ml
8. Wash Solution A (fehér kupak)	80 ml	200 ml	80 ml
9. Conjugate Solution (átlátszó kupak)	25 ml	65 ml	25 ml
10. Wash Solution B (átlátszó kupak)	80 ml	200 ml	80 ml
11. 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>			
12. Használati útmutató	1	1	1
13. Collector™ Sheet	1	3	1

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

az összetevő neve	összetétel
Amplification Mix A1/A2/B	szekvencia-specifikus, 5'-biotinnal jelölt oligonukleotidok, dezoxiribonukleotid-trifoszfátok (dATP, dCTP, dGTP és dTTP), MgCl ₂ , ammónium-szulfát puffer, betain, 0,05% nátrium-azid, egyenlő arányú keveréke
Taq Dilution Buffer	puffer a HS-Taq DNA Polymerase-hoz, amely KCl-t, (NH ₄) ₂ SO ₄ -ot, MgCl ₂ -ot és 0,05% nátrium-azidot tartalmaz
HS-Taq DNA Polymerase (5 E/µl)	hot-start-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
Teststrip A/B tesztcsíkok	allélspecifikus oligonukleotid próbák, a pozitív PCR-reakció kontrollja és egy hibridizációs kontroll, párhuzamos vonalak tömbjeként immobilizálva egy poliészter hordozós membránon, amelyet felül egy piros, alul egy zöld (Teststrip A) vagy kék (Teststrip B) 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 foszfatáz
Wash Solution B	< 2% detergenst és 0,05% nátrium-azidot tartalmazó trisz-puffer
Color Developer	az alkalikus foszfatáz színszubsztrátja nitro-kék-tetrazóliumot (NBT, nitro blue tetrazolium) és 5-bróm-4-klór-3-indolil-foszfatot (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:

- Spin Micro DNA Extraction Kit (REF 2-020, ViennaLab)
- PCR készülék (thermocycler) fűtött fedéllel (a felfűtési sebességének meghatározásához lásd a VIII. szakaszt)
- Vízfürdő rázóplatformmal, fedéllel és állítható hőmérséklettel ($45\text{ °C} \pm 1\text{ °C}$)
- Rázógép (billegő vagy orbitális rázó gép)

Opcionális:

- Vákuumos szívókészülék
- Mikrotiterlemez formájú, fedeles, szabályozható hőmérsékletű ($45\text{ °C} \pm 1\text{ °C}$) 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-érvételi 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. A vér alikvot mennyiségének levétele előtt minden alkalommal ismétlje meg a keverést. A teljes vérből történő DNS-izoláláshoz ajánlott a **Spin Micro DNA Extraction Kit** (REF 2-020, ViennaLab) használata. Más DNS-izolálási módszerek használatát nem validálták az α -Globin StripAssay® termékkel. Más DNS-extrakciós rendszerek használata esetén a DNS koncentrációjának és tisztaságának a 2–10 ng/ μ l 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.

Megjegyzés: A PCR-inhibitorokat és/vagy a gyöngyalapú extrakciós rendszerből származó mágneses részecskéket tartalmazó DNS refrakter lehet az amplifikációra, ezért 2 ng/ μ l koncentrációra kell hígítani PCR minőségű vízzel.

A kivont DNS 2 °C és 8 °C közötti hőmérsékleten (legfeljebb egy hétig) vagy -30 °C és -15 °C közötti hőmérsékleten (hosszú ideig) tárolandó az elemzés elvégzéséig.

2. In Vitro amplifikáció (PCR) – mintánként 3 különálló reakció

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

- Minden alkalommal készítsen frissen megfelelő mennyiségű **HS-Taq DNA Polymerase** (5 E/μl, piros kupak) munkaoldatot **Taq Dilution Buffer**-ben (átlátszó kupak) (1:15, végkoncentráció: 0,33 E/μl) az elemzendő minták számának megfelelő mennyiségű mintával, valamint a **templát nélküli kontrollal** (NTC, no-template control).

összetevő	reakciónként	pl. 10 reakció
HS-Taq DNA Polymerase (5 E/μl)	0,33 μl	3,3 μl
Taq Dilution Buffer	4,67 μl	46,7 μl
munkaoldat	5 μl	50 μl

- Készítsen három reakciócsövet minden egyes amplifikálandó mintához. Helyezze a csöveket jégre.
- Minden mintához készítsen 3 végleges PCR-reakciókeveréket (A1, A2, B) jégen:
 - A1: **15 μl Amplification Mix A1** (sárga kupak)
5 μl hígított HS-Taq DNA Polymerase (1,66 E)
5 μl DNS-templát
 - A2: **15 μl Amplification Mix A2** (fehér kupak)
5 μl hígított HS-Taq DNA Polymerase (1,66 E)
5 μl DNS-templát
 - B: **15 μl Amplification Mix B** (zöld kupak)
5 μl hígított HS-Taq DNA Polymerase (1,66 E)
5 μl DNS-templát

Megjegyzés: Minden mintához ajánlott egy törzselegyet készíteni, amely Amplification Mix-et és hígított HS-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 munkaoldatokat/törzselegyet a pipetázási pontatlanságok kompenzálására.

- A csöveket szorosan zárja le. Melegítse elő a PCR készüléket (thermocycler) 95 °C-ra.
- Helyezze be a reakciócsöveket, és futtassa le a következő PCR (thermocycling) programot:
 - pre-PCR: 95 °C/5 perc**
 - PCR (thermocycling): 97 °C/40 s – 64 °C/40 s – 72 °C/1,5 perc (3 ciklus)**
97 °C/40 s – 58 °C/40 s – 72 °C/1,5 perc (37 ciklus)
 - végző hosszabbítás: 72 °C/5 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: 881 bp; deléciók: 1783 bp (A1)
 296 bp; deléciók: 250, 329, 373, 474, 578, 1025 bp (A2)
 302, 864 bp; deléciók: 1772 bp (B)

3. A Teststrip tesztcsíkok feldolgozása

3.1. Hibridizáció (manuális) – 2 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 Teststrip A és egy Teststrip B 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).

Minden **Teststrip A tesztcsík** esetében (mintánként egy sáv):

- Pipetázzon **20 µl DNAT-t** minden egyes sáv alsó sarkába, amelyet a Typing Trays tálcákban használnak.
- Adjon **10 µl A1 amplifikációs terméket** a megfelelő csepp DNAT-hoz.
- Adjon **10 µl A2 amplifikációs terméket** ugyanabba a cseppbe.
- Pipetával 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 A** vagy a **Teststrip B** tesztcsíkot a megjelölt oldallal felfelé (a vonalaknak láthatónak kell lenniük!) a megfelelő sávokba. A Teststrip tesztcsíkoknak teljesen el kell merülniük.
- Inkubálja **30 percig 45 °C-on** a vízfürdő rázó platformján.

Minden **Teststrip B tesztcsík** esetében (mintánként egy sáv):

- Pipetázzon **10 µl DNAT-t** (kék kupak) minden egyes sáv alsó sarkába, amelyet a Typing Trays tálcákban használnak.
- Adjon **10 µl B amplifikációs terméket** a megfelelő csepp DNAT-hoz.
- Pipetával alaposan keverje össze. (Az oldat kék marad.)

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 pipetázással.

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 pipetázással 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 pipetázással 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

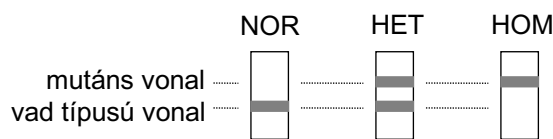
A minta genotípusának meghatározása a megfelelő Teststrip A és Teststrip B tesztcsíkok esetében a mellékelt Collector™ Sheet segítségével történik. Helyezze mindkét feldolgozott tesztcsíkot a kijelölt mezőkbe, igazítsa a vázlatos rajzhoz a piros jelölővonal (fent) és a zöld vagy kék jelölővonal (lent) 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.

A PCR A kontroll és PCR B kontroll vonalak pozitív reakciója a megfelelő amplifikációs termékek jelenlétét jelzi. Ezeknek a vonalnak mindig pozitívnak kell festődniük, kivéve a templát nélküli kontrollt, amely a DNS-templát helyett vizet tartalmaz (lásd a H. példát, 18. oldal).

A PCR-kontrollok hiánya a tesztcsíkokon azt jelezheti, hogy az A1/A2 keverék amplifikációs termékek hamisan hibridizálódtak a Teststrip B tesztcsíkon, a Mix B keverék amplifikációs termékei pedig a Teststrip A tesztcsíkon. Ismételje meg a tesztet.

Minden egyes polimorf pozícióhoz a következő festődési mintázatok egyikét (2. ábra) 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 α-Globin StripAssay® által lefedett pontmutációk egy része az α-globin gén néhány nukleotidján belül található. A tesztcsíkokon ezeket egy közös vad típusú próba képviseli, így a 21 mutációt mindössze 9 vad típusú próba fedi le:

vonal	vad típusú próba	mutáció
10	α1 cd 14	α1 cd 14 [G>A]
11	α1 cd 59	Hb Adana
25	α2 init cd	α2 init cd [T>C]
26	α2 cd 19	α2 cd 19 [-G]
27	α2 IVS 1	α2 IVS 1 -5nt
28	α2 cd 59	α2 cd 59 [G>A]
29	α2 cd 125	Hb Quong Sze
30	α2 cd 142	Hb Constant Spring, Hb Icaria, Hb Pakse, Hb Koya
31	α2 poly A	α2 poly A-1, α2 poly A-2

Azok a minták, amelyek két ilyen mutációra (pl. Hb Constant Spring + Hb Pakse) összetett heterozigóták, nem tartalmazzák a közös vad típusú jelet (lásd az E. példát, 18. oldal).

Az α1/α2 mutációk valamelyikére és egyszeres vagy kétszeres géndelécióra összetett heterozigóta mintákból a legtöbb esetben hiányzik a megfelelő vad típusú jel (lásd a D. példát, 18. oldal).

Egyszeres és kétszeres géndeléciók esetén számos vad típusú próba tesz különbséget a heterozigóta és a homozigóta mutáns állapot között (lásd a B. és C. példát, 18. oldal):

deléció	heterozigóta	homozigóta mutáns
- 3,7	minden WT jel jelen van	a 25–31 WT jel hiányzik
- 4,2	minden WT jel jelen van	a 25–31 WT jel hiányzik
- 20,5 kb	minden WT jel jelen van	a 10 és 25–31 WT jel hiányzik
-- MED-I	minden WT jel jelen van	minden WT jel hiányzik
-- SEA	minden WT jel jelen van	minden WT jel hiányzik
-- THAI	minden WT jel jelen van	minden WT jel hiányzik
-- FIL	minden WT jel jelen van	minden WT jel hiányzik

Mint minden diagnosztikai vizsgálat esetében, az α-Globin 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 α -Globin StripAssay® **pontosságát** 330 előzetesen tipizált genomi DNS-mintát elemezve határozták meg. Az eredmények egy mintától eltekintve egyeztek a referencia módszerrel (Sanger-szekvenálás, gap-PCR, ARMS-PCR, reverz dot-blot analízis, EQA-ból származó minták). Egy heterozigóta polyA-2 mintát, amely az *alfa 2* és *pszeudo-alfa* gének 3'-végének ritka rekombinációjából származik, a StripAssay® hamis negatívnak (vad típus) tipizált. A vizsgálat 359 mutáns allélt (= 99,7% pozitív százalékos egyezés) és 300 vad típusú allélt (= 100% negatív százalékos egyezés) mutatott ki helyesen.

Az α -Globin StripAssay® **precizitását** az ismétlések, kezelők, napok, PCR készülék és hibridizációs eszközök közötti variabilitásként értékelték. A vizsgált paraméterek mellett elvégzett összesen 62 tesztből 61 mutatta a várt genotipizálási eredményeket, egy minta pedig a templát DNS pipettázásának pontatlansága miatt nem sikerült. A Teststrip tesztcsíkok festődési intenzitásában csak elhanyagolható különbségek mutatkoztak, és nem volt megfigyelhető háttérfestődés. Az α -Globin StripAssay® vizsgálatot az AB GeneAmp® PCR System 2700, az MJ Research PTC-200 és az Eppendorf Mastercycler X50s készülékeken validálták, amelyek 1,7–6,3 °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: Egy multicentrikus összehasonlító vizsgálatban (Puehringer és munkatársai, 2007) a világ nyolc különböző talasszémiás központjából származó összesen 272 betegmintát vizsgáltak meg az α -Globin StripAssay® teszttel és az ezekben a laboratóriumokban rutinszerűen alkalmazott referencia módszerekkel. A betegcsoport 544 vad típusú vagy mutáns α -globin allélja közül 523 (96,14%) esetében az eredmények teljesen egyeztek a StripAssay® és a házon belüli módszerek között.

IX. ZAVARÓ ANYAGOK

Öt zavaró anyagot (hemoglobin, immunglobin G, véryomok, 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 μ M hemoglobin, 0,1 μ M 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 α-Globin StripAssay® kizárólag a III. szakaszban felsorolt 21 ismert mutáció diagnosztizálására tervezték, amelyeket a Teststrip tesztcsíkokon található allélspecifikus megkötő próbák képviselnek. Egyéb alfa-globin deléciók, pontmutációk vagy rekombinációk, amelyek jelen lehetnek a beteg mintájában, nem mutathatók ki. A legjobb esetben egy figyelmen kívül hagyott pontmutációt, amely a befogadó próba által lefedett szekvencián belül található, a vad típusú jel elvesztése jelezheti a Teststrip tesztcsíkon, ha az egyidejűleg jelen van, egyszeres vagy kétszeres géndelációval vagy homozigóta állapotban.

A primerek és próbák kötőhelyein belüli ritka vagy egyedi variánsok, valamint génkonverziók az amplifikáció sikertelenségéhez és a Teststrip tesztcsíkokon hiányzó jelekhez vezethetnek.

Az α-Globin StripAssay® nem teszi lehetővé a heterozigóta és a homozigóta mutáns állapot megkülönböztetését az anti-3,7 gén triplikáció (anti-3,7/αα és anti-3,7/anti-3,7) között.

A teszttel nem kimutatható nagy géndelációk jelenlétében az egyszeres géndelációk (-3,7 vagy -4,2) és a pontmutációk homozigótaként jelennek meg.

Az α-Globin StripAssay® nem használható prenatális diagnózis vagy preimplantációs genetikai diagnózis céljára. A vizsgálatot nem validálták a korionboholy mintából, magzatvízből vagy köldökzsínórvérből származó mintákon.

Az α-Globin 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 bőrrrel, 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)
- HbVar adatbázis (<http://globin.cse.psu.edu/hbvar/menu.html>)
- Thalassaemia International Federation (www.thalassaemia.org.cy)
- Ithamet (www.ithamet.eu)
- Puehringer et al. Clin Chem Lab Med 2007;45(5):605-10

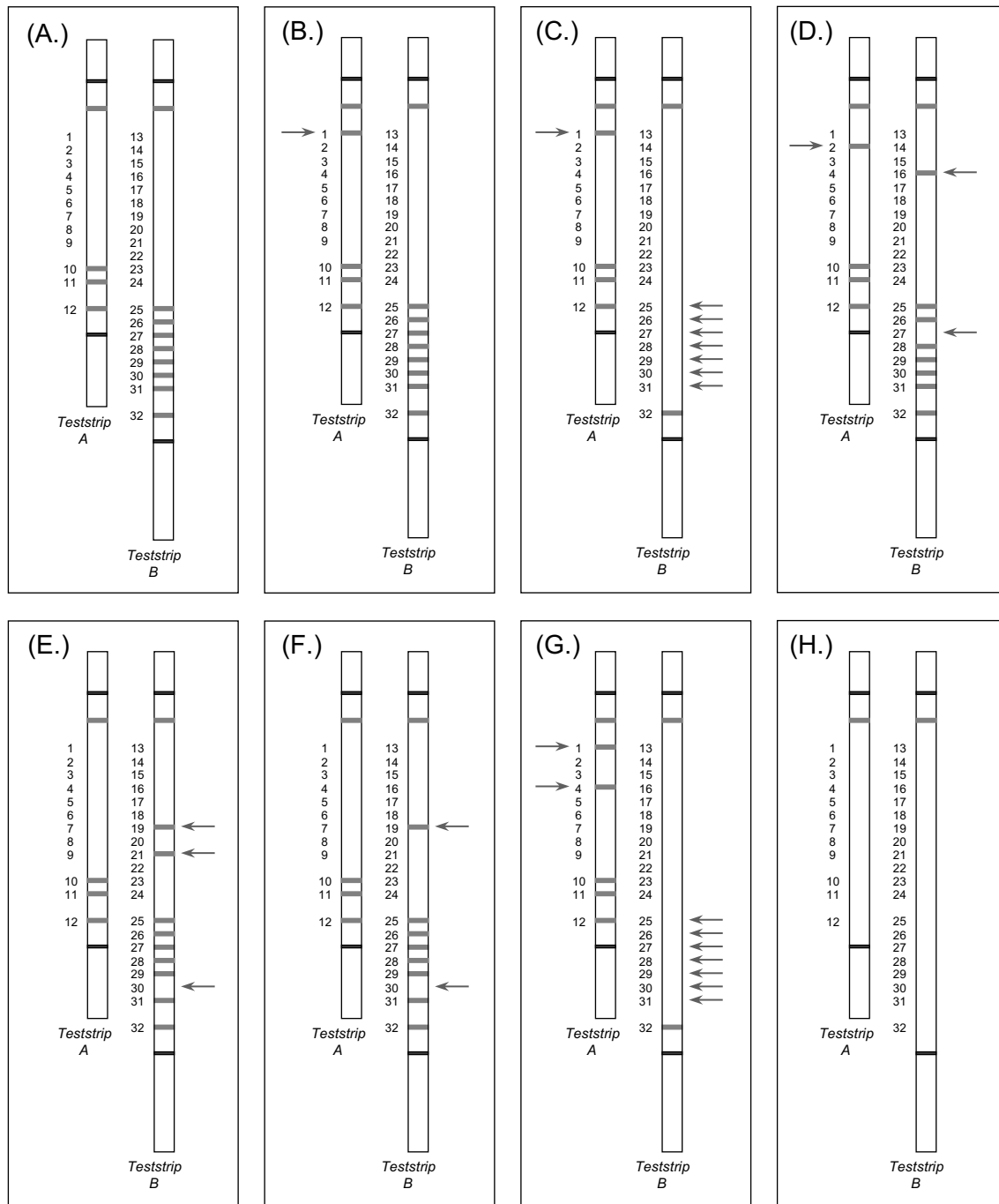
XV. VISSZAJELZÉS A GYÁRTÓNAK

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 α-Globin StripAssay® vizsgálattal kapott eredményekre

- (A.) normális (αα/αα)
- (B.) -3,7 heterozigóta (-3,7/αα)
- (C.) -3,7 homozigóta (-3,7/-3,7)
- (D.) -4,2 + IVS1-5nt heterozigóta (-4,2/IVS1-5nt)
- (E.) Hb Constant Spring + Hb Pakse heterozigóta (HbCS/HbPak)
- (F.) Hb Constant Spring homozigóta (HbCS/HbCS)
- (G.) -3,7 + --MED-1 heterozigóta (-3,7/--MED-1)
- (H.) negatív kontroll vagy PCR-hiba

MEGJEGYZÉSEK

XVIII. KAPCSOLÓDÓ TERMÉKEK

REF		
4-125	β -Globin StripAssay [®] AZE1	20 vizsgálat
4-126	β -Globin StripAssay [®] AZE2	20 vizsgálat
4-130	β -Globin StripAssay [®] MED	20 vizsgálat
4-140	β -Globin StripAssay [®] IME	20 vizsgálat
4-150	β -Globin StripAssay [®] SEA	20 vizsgálat
4-160	α -Globin StripAssay [®]	10 vizsgálat
4-170	β -Thal Modifier 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