IVD CE 2797

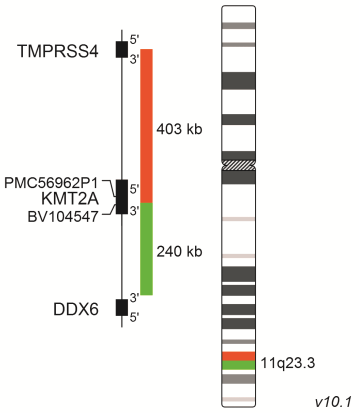
Инструкция за употреба

Само за професионална употреба

MetaSystems Probes

Допълнителна информация и други езици са достъпни на www.metasystems-probes.com
имейл: info@metasystems-probes.com

Продукт	маркировка	Референтен №	UDI-DI	Размер на опаковката
XL KMT2A BA	оранжев/зелен	D-5090-100-OG	04251315812291	100 µl



Предвидена цел

Сондата XL KMT2A BA break-apart е качествен, неавтоматизиран тест за откриване на Пренареждания на *KMT2A* в 11q23.3 чрез флуоресцентна in situ хибридизация (FISH). Продуктът е предназначен за диагностична помощ и подпомага наблюдението на заболяването. Популацията на теста се състои от пациенти с потвърдена или подозирана остра лимфобластна левкемия (ALL) и остра миелоидна левкемия (AML). Хибридизацията трябва да се извършва върху фиксирани в метанол/оцетна киселина клетки, получени от костен мозък или периферна кръв.

Описание на продукта

Сондата XL KMT2A BA break-apart се състои от оранжево маркирана сонда, хибридизираща проксимално от генния регион *KMT2A* в 11q23.3 и простираща се в гена до интрон 24, и зелено маркирана сонда, хибридизираща дистално от генния регион *KMT2A* в 11q23.3 и простираща се в гена до интрон 20, като по този начин се припокриват с 3,4 kb (GRCh37/hg19).

Известна кръстосана реактивност

Не са известни кръстосани хибридизации.

Предоставени материали

100 µl (10 теста) от XL KMT2A BA, сондата е разтворена в хибридизационен разтвор (> 50 % v/v формамид, < 30 % w/v декстран сулфат и < 2 пъти SSC (физиологичен разтвор - натриев цитрат)) и е готова за употреба.

Ограничения

Анализът, интерпретацията на данните и докладването на диагностичните резултати, получени чрез FISH, трябва да се извършват в съответствие с професионалните норми и съответните насоки от квалифициран и опитен персонал. Продуктът не е предназначен за използване като самостоятелна диагностика, скрининг на заболявания или като придружаваща диагностика. Следователно диагностичното изследване, получено чрез този продукт, винаги се прави в комбинация с други диагностични методи. Отклоненията от протоколите на производителя могат да повлияят на устойчивостта и ефективността на теста и да доведат до подвеждащи резултати. Картите на сондите се създават в съответствие с предназначението на продукта. Плътно оцветените ленти не означават непременно, че сондата покрива изцяло посочения геномен регион. Показани са само пропуски, по-големи от 10 kb. Поради това се препоръчва повишено внимание при интерпретирането на резултатите, получени чрез употреба извън предназначението. Допълнителна информация се предоставя при поискване.

Като базиран в Германия производител и дистрибутор на IVD, MetaSystems Probes спазва действащите европейски и германски разпоредби, които забраняват всякакви изявления относно интерпретацията на данни, свързани с пациента, както и съответно диагностични и терапевтични препоръки.

Съхранение и обработка

Сондите трябва да се съхраняват на тъмно при температура -20 °C (±5 °C). Доказано е, че ефективността на сондата не се променя при 20 цикъла на замразяване и размразяване. Сондите са чувствителни към светлина, поради което излагането на светлина трябва да се ограничи до минимум по време на работа.

Доставка

Продуктите, произведени от MetaSystems Probes, се доставят при стайна температура.

Оборудване и материали, които са необходими, но не са доставени

- Водна баня с точен контрол на температурата
- Гореща плоча, с твърда плоча и точен контрол на температурата
- Микропипети с обеми от 1 µl до 1 ml, калибрирани
- pH метър, калибриран
- Фризер -20 °C (±5 °C)
- Овлажнена камера 37 °C (± 1 °C)
- Флуоресцентен микроскоп с подходящи филтри (вж. по-долу)
- Масло за потапяне, препоръчано от производителя на микроскопа (клас за флуоресценция)
- Термометър
- DAPI/antifade
- Каучуково лепило
- Микроскопски стъкла
- Покривни стъкла: 22 mm x 22 mm и 24 mm x 32 mm
- Ръкавици
- Вани за оцветяване Coplin
- Пинсети
- 20x SSC
- Tween-20
- Дестилирана вода
- Микроцентрофуга
- Таймер

Спецификация на флуорохрома

маркировка	Възбуждане макс.	Емисия макс.
зелен	505 nm	530 nm
оранжев	552 nm	576 nm

Препоръка за флуоресцентен микроскоп

- Флуоресцентно осветяване: Подходящи системи за флуоресцентно осветяване с метални халогениди или светодиоди или конвенционални 100-ватови живачни лампи.
- Обективи, подходящи за епифлуоресцентно осветяване.
- Флуоресцентни филтри: За наблюдение/преброяване използвайте подходящ комплект многолентови филтри. За заснемане на изображения или наблюдение на отделни цветни канали на микроскопа използвайте подходящи комплекти еднолентови филтри за съответните флуорохроми (напр. от MetaSystems).

Принцип на изпитване

Флуоресцентната in situ хибридизация (FISH) използва ДНК фрагменти, в които са включени нуклеотиди, свързани с флуорофори, за откриване на комплементарни ДНК последователности във фиксирани клетки под флуоресцентен микроскоп. ДНК на избраните сонди и ДНК на пациента се денатурират, което означава, че двете ДНК вериги на двойната спирала се разделят. По време на последващото ренатуриране ДНК сондите хибридизират с комплементарните секвенции на пациентската ДНК.

Подготовка на пробата

Общи коментари

Продуктът е проектиран за употреба, както е посочено в предназначението.
Фиксираните в метанол/оцетна киселина клетки се приготвят от аспирати от костен мозък или периферна кръв. Допълнителни подробности за стандартните процедури могат да бъдат намерени в лабораторни ръководства и публикации (например, The AGT Cytogenetics Laboratory Manual, 4th Edition).

Стабилност на хибридизираните препарати

- Хибридизираните слайдове за FISH могат да се анализират в продължение на поне шест месеца, ако се съхраняват на тъмно при -20 °C (±5 °C).

Допълнителни препоръки за процеса

- Използването на калибриран термометър е силно препоръчително за измерване на температурата на разтвори, водни бани и инкубатори, тъй като тези температури са от решаващо значение за оптималната работа на продукта.
- Внимателно проверете температурата на предварително загрятите разтвори.
- Внимателно проверете стойността на pH на всички разтвори. Тя трябва да бъде в интервала 7,0 - 7,5 при стайна температура.
- Концентрацията на буферите (стрингенс), pH и температурата са важни, тъй като ниският стрингенс може да доведе до неспецифично свързване на сондата, а твърде високият стрингенс може да доведе до намален интензитет на сигнала или до изчезване на сигнала.
- Преди отваряне: центрофугирайте за кратко, за да съберете сондата на дъното на епруветката.

Протокол за FISH за ДНК сонди на MetaSystems

Подготовка на слайдовете

1. Капнете клетъчната проба върху микроскопско стъкло. Оставете да изсъхне на въздух. Ако предметни стъкла не се използват през следващите няколко дни, съхранявайте ги при -20 °C (±5 °C).
2. Нанесете 10 µl от сондата.
3. Покрийте с покривно стъкло 22 mm x 22 mm.
4. Запечатайте с каучуково лепило.

Денатурация

1. Денатурирайте едновременно пробата и сондата, като нагрявате предмета върху гореща плоча при 75 °C (±1 °C) за 2 мин.

Хибридизация

1. Инкубирайте в овлажнена камера при 37 °C (±1 °C) за една нощ.

Промиване след хибридизация

Необходими решения

- 0,4x SSC (pH 7,0 - 7,5) при 72 °C (±1 °C)
- 2x SSC, 0,05 % Tween-20 (pH 7,0) при стайна температура

Процедура

1. Отстранете внимателно покривното стъкло и всички следи от лепило.
2. Измийте слайда в 0,4x SSC (pH 7,0) при 72 °C (±1 °C) за 2 мин.
3. Отцедете слайда и го измийте в 2x SSC, 0,05 % Tween-20 (pH 7,0) при стайна температура за 30 секунди.
4. Изплакнете за кратко в дестилирана вода, за да избегнете образуването на кристали, и го оставете да изсъхне на въздух.

Контраст

Необходими решения:

- DAPI/antifade (напр. MetaSystems Probes DAPI/antifade, D-0902-500-DA)

Процедура:

1. Нанесете 10 µl от DAPI/antifade и покрийте с покривно стъкло с размери 24 mm x 32 mm.
2. Оставете проникването на DAPI/antifade за 10 мин.
3. Продължете с микроскопията и анализа.
4. Съхранявайте предметни стъкла при -20 °C (±5 °C).

Очаквани резултати

Показани са само най-често срещаните констелации от сигнали, като могат да се наблюдават и други релевантни модели на сигнали.

Нормална клетка:
Два зелено-оранжеви колокализационни/ фузионни сигнала (2GO).



Аберантна клетка (типични резултати):
Един зелено-оранжев колокализационен/ фузионен сигнал (1GO), един отделен зелен (1G) и един отделен оранжев (1O) сигнал, всеки от които е резултат от хромозомно прекъсване в съответния локус. Транслокации с точки на прекъсване в областта на клъстера на прекъсванията на *KMT2A* водят до малък оранжев разделен сигнал, който остава със сепарирания зелен сигнал. Остатъчният оранжев сигнал е значително по-малък от отделения оранжев сигнал и може дори да бъде невидим.



Аберантна клетка (типични резултати):
Два зелено-оранжеви колокализационни/ фузионни сигнала (2GO) и един отделен, обикновено малък оранжев (1O) сигнал, показващ инсерция на съответния геномен регион в неизвестна хромозома.



Аналитично действие

Данните за аналитичното действие са събрани, като са използвани интерфазни ядра от лимфоцитни култури, стимулирани с PHA. Събирането на клетките е извършено в съответствие с цитогенетичните стандарти. Еквивалентността на резултатите между нестимулирани култури от костен мозък и стимулирани с PHA лимфоцити беше осигурена чрез сравнително проучване.

Аналитична специфичност

Специфичността се изчислява като процент на откритите правилни цели от общия брой открити цели.

Изчислената аналитична специфичност е 100 % след 20 оценени метафази от 5 различни кариотипно нормални мъже.

Аналитична чувствителност

Аналитичната чувствителност се изчислява като процент на интерфазните ядра, които имат очаквания нормален модел на сигнала, от общия брой анализирани интерфазни ядра. Анализирани са сигналите на 400 ядра от всеки от 10 кариотипно нормални индивида.

Степента на отклонение от средната стойност се представя с относителното стандартно отклонение (% RSD).

Модел	Чувствителност	% RSD
2GO (нормално)	99.8 %	0.3 %

Гранична стойност (Cut-off)

Границата за качествен тест е прагът, над който резултатът се счита за положителен и под който резултатът се счита за отрицателен.

Стойността на границата е изчислена въз основа на хибридизации на сонди върху интерфазни ядра на 10 кариотипно нормални лица. Стойностите на границата се основават на 400 оценени ядра всяко.

Модел	Гранична стойност (Cut-off)
1GO 1G 1O	1.6 %

Стойността на границата е информативна и зависи от няколко параметри, свързани с лабораторията. Следователно за диагностична употреба граничните стойности трябва да се определят индивидуално от всяка лаборатория.

Прецизност (възпроизводимост/повторяемост)

Възпроизводимостта е степента на съответствие между резултатите от аналитичните изследвания на чувствителността, проведени при различни условия (ден, партида и проба). За всяко условие са извършени три анализа с по 100 ядра.

Възпроизводимостта се определя като степен на отклонение от средната стойност чрез относителното стандартно отклонение (% RSD).

Условия	Възпроизво-димост % RSD
От ден на ден една и съща партида и едно и също лице в три дни	0.6 %
От партида до партида едно и също лице и ден с три партиди	1.0 %
От проба до проба една и съща партида и един и същи ден с три лица	0.6 %

Повторяемостта е степента на съответствие между изследванията, проведени при едни и същи условия. Отделни изследвания на повторяемостта не са провеждани, тъй като степента на отклонение от средната стойност при изследванията на възпроизводимостта при различни условия се определя с ≤5 % относително стандартно отклонение (% RSD). Следователно беше направен извод за степен на отклонение от средната стойност при еднакви условия с ≤5 % относително стандартно отклонение (% RSD).

Клинично действие

Публикувана литература

Твърденията за клиничното действие на продукта по отношение на предвидената цел са подкрепени от научна литература, свързана с продукта и състоянието, което се анализира с продукта.

- Grönroos et al (2020) Sci Rep. 10:2043
- Hidalgo-Gómez et al (2021) Leuk Lymphoma. 62:2202-2210
- Assaf et al (2021) Mol Biol Rep. 48:7021-7027
- Chebly et al (2022) Leuk Res Rep. 16:100277

Публикуван опит, придобит от рутинни диагностични тестове

Данните от рутинни диагностични тестове са получени от европейски диагностични лаборатории и са публикувани на уебсайта на MetaSystems Probes (вж. съответния лист с данни за действието в съответния раздел за изтегляне за този конкретен продукт). Наличието на целевия маркер в положителните случаи и отсъствието му в отрицателните случаи, открити чрез FISH, е потвърдено чрез референтни технологии (хромозомен бандинг анализ). Тестовата кохорта включва пациенти с потвърдена или подозирана ALL, AML, CMML, MDS, MPN и NHL. Пробите са получени от костен мозък и периферна кръв.

Прена-реждане	Брой случаи	Диагностична чувствителност	Диагностична специфичност
Пренареждания на *KMT2A* в 11q23.3	1538	100 %	100 %

Други източници на данни за клиничното действие

Оценката на диагностичните данни за валидиране, събрани като част от IVDD и класифицирани като други източници на данни за клинично действие, показва, че XL KMT2A BA правилно идентифицира всички 16 анализирани случая на аберация.

Процедура за контрол на качеството

Преди първоначалното използване на този продукт в диагностиката трябва да се провери дали той работи според очакванията. Трябва да се вземат предвид ръководствата и препоръките за прилагане на нови FISH тестове в диагностиката (например CLSI Fluorescence In Situ Hybridization Methods for Clinical Laboratories; Approved Guideline - Second Edition).

Инструкции за безопасност

Всички сонди, произведени от MetaSystems Probes, са предназначени само за професионална употреба и трябва да се използват от квалифициран и обучен персонал. За да осигурите безопасна работа и възпроизводими резултати, моля, спазвайте инструкциите за безопасност и предупредителните знаци по-долу.

	**ОПАСНОСТ**
Съдържа:	Формамид
Предупреждения за опасност:	H360FD Може да увреди плодовитостта. Може да увреди неродено дете. H351 Подозира се, че причинява рак. H373 Може да причини увреждане на органите при продължителна или многократна експозиция.
Инструкции за предпазване:	P201 Получете специални инструкции преди употреба. P260 Не вдишвайте прах/дим/газ/мъгла/изпарения/спрей. P280 Носете защитни ръкавици/защитно облекло. P308+ P313 Ако е изложен на риск или е засегнат: Потърсете медицинска помощ/внимание. P501 Изхвърлете съдържанието/ контейнера в съответствие с местните/ регионалните/националните/ международните разпоредби.
Специално етикетиране:	Ограничено за професионални потребители.
	**ВНИМАНИЕ: Гореща водна баня и горещи плочи!** За денатурация и хибридизация се използват горещи водни бани и горещи плочи с температура >37 °C. Внимавайте да не влезете в пряк контакт с горещи повърхности или течности. Носете ръкавици и лабораторна престилка. В случай на контакт с кожата, незабавно охладете със студена вода.
	**ВНИМАНИЕ: Добра лабораторна практика!** Използвайте в съответствие с принципите на добрата лабораторна практика.

Докладване на нежелани събития

Всеки сериозен инцидент, възникнал във връзка с изделието, се докладва на производителя и на компетентния орган на държавата членка, в която е установен потребителят и/или пациентът.

Отстраняване на неизправности

Проблем	Потенциална(и) причина(и)	Препоръчително решение
В микроскопа не се откриват FISH сигнали.	• Затворен шатър за отразена светлина / Стопер в светлинния път	• Отворете шатъра/ преместете стопера от светлинния път
	• Луминесцентната лампа е изключена.	• Включете флуоресцентната лампа.
	• Поставен неправилен флуоресцентен филтър.	• Поставете правилния филтър.
	• Обектива не е позициониран.	• Позиционирайте правилно обектива.
	• Зрителната глава е в режим камера.	• Насочете светлинния път към окулярите.
Сигналите за хибридизация отслабват след известно време.	• Маслото за имерсия е проникнало между предметното стъкло и покривното стъкло.	• Заменете покривното стъкло и нанесете DAPI/antifade. Използвайте покривно стъкло с размери 24 mm x 32 mm, дори ако се хибридизира само малък участък.
Дифузни сигнали.	• Обектът не е достатъчно добре осветен.	• Проверете оптичния път на микроскопа. Настройте правилно ултравиолетовата светлина. Проверете живота на UV лампата.
	• Равнината на фокусиране не може да се регулира правилно.	• Използвайте достатъчно масло за имерсия. Не смесвайте различни масла за имерсия. Използвайте масло за имерсия, подходящо за флуоресценция. • Слоят против избледняване е твърде дебел за фокусиране. Не използвайте твърде много DAPI/antifade. Достатъчни са 10 µl на предметно стъкло (24 mm x 32 mm покривно стъкло). • Използвайте подходящи покривни стъкла.
Слаби сигнали.	• Подготовката на слайдовете е твърде стара.	• Слайдовете не трябва да са по-стари от две седмици. Ако слайдовете не се използват в рамките на този период, се съхраняват при -20 °C (±5 °C).
	• Денатурацията не е подходяща.	• Използването на стари слайдове, печенето или допълнителното фиксиране може да попречи на хибридизацията и не се препоръчва. • Увеличете температурата на денатурация до 80 °C или увеличете времето за денатурация до 3 мин.
	• За преглед се използва многолентов филтър.	• Използвайте специален еднолентов филтър.
Слаби aqua или зелени сигнали или силно дифузен фон в зеления цветови канал.	• Интензитетът на DAPI е твърде висок, което води до припокриване на филтъра AQUA или ЗЕЛЕНА.	• Използвайте DAPI/antifade с ниска концентрация.
	• Стойността на pH на разтворите за измиване е твърде ниска.	• Уверете се, че стойността на pH е между 7,0 и 7,5 на разтворите. Някои зелени флуорофори са много чувствителни към pH под 7,0.
Висок неспецифичен фон.	• Останалите цитоплазмени протеини на клетките могат да нарушат хибридизацията.	• Предварително обработете предметни стъкла с пепсин.
Ако препоръчаните мерки не решат проблема или проблемът ви не е посочен в списъка, моля, свържете се с MetaSystems Probes.		

Поддръжка на клиенти

Моля, свържете се с MetaSystems Probes GmbH (данните за контакт вижте по-долу) или с нашия оторизиран дистрибутор във вашата страна.

MetaSystems Probes GmbH
1. Industriestrasse 7
68804 Altlussheim
Германия

Тел: +49 (0)6205 292760
Факс: +49 (0)6205 2927629
имейл: info@metasystems-probes.com
уебсайт: www.metasystems-probes.com

MetaSystems Probes се отказва от всякакви права на собственост върху марките и имената на други лица.

За резюме във връзка с безопасността и действието посетете уебсайта https://ec.europa.eu/tools/eudamed/#/screen/home или направете запитване до info@metasystems-probes.com.

Използвани символи

Символ	Описание
IVD	Посочва медицинско изделие, което е предназначено да се използва като медицинско изделие за ин витро диагностика.
CE	Маркировка за съответствие, която указва, че дадено устройство е в съответствие с приложимите регулаторни изисквания в Европейския съюз.
	Посочва производителя на медицинското изделие.
⚠	Указва, че е необходимо повишено внимание при работа с устройството или органа за управление в близост до мястото, където е поставен символът, или че настоящата ситуация изисква внимание или действие от страна на оператора, за да се избегнат нежелани последици.
	Посочва, че е необходимо потребителят да се запознае с инструкциите за употреба.

Преразглеждане на документа

Ревизия	Дата на издаване	Индикация за промяна
BG-CE-IVD-RevB261029-261030v10.1	24.11.2026	Актуализирано IFU в съответствие с РЕГЛАМЕНТ (ЕС) 2017/746 относно ин витро диагностичните медицински изделия. Актуализацията не засяга пряко характеристиките на изделията и не оказва влияние върху състава или съставките на нашите продукти. Тя не влияе и върху начина на приложение на нашите продукти, но предизвиква промени в информацията, предоставяна с продукта като етикети, предназначение и инструкции за употреба.