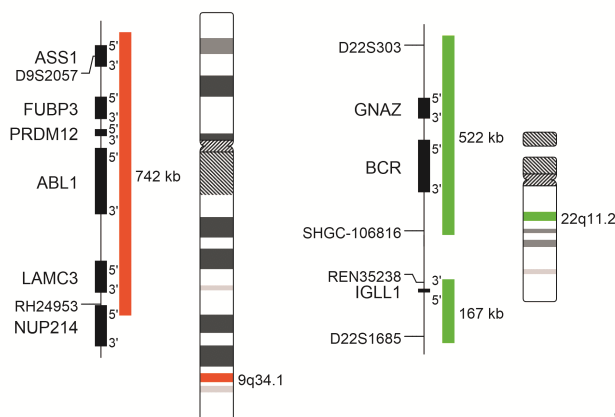




Další informace a jiné jazykové verze jsou k dispozici na adrese www.metasystems-probes.com
 e-mail: info@metasystems-probes.com

Produkt	Značení	Referenční číslo	UDI-DI	Velikost balení
XL BCR/ABL1 plus	zelená/oranžová	D-5052-100-OG	04251315812093	100 µl



v10.2

Zamýšlený účel

Translokační/dvoufúzní XL BCR/ABL1 plus sonda je kvalitativní neautomatizovaný test pro detekci *BCR::ABL1*-přestaveb, t(9;22)(q34.1;q11.2) pomocí fluorescenční in situ hybridizace (FISH). Přípravek je určen jako diagnostická pomůcka a pomáhá při sledování onemocnění. Testovanou populaci tvoří pacienti s potvrzenou nebo suspektní akutní lymfoblastickou leukémií (ALL), akutní myeloidní leukémií (AML) a chronickou myeloidní leukémií a myeloproliferativními neopláziemi (CML/MPN). Hybridizace se provádí na buňkách fixovaných metanolem/kyselinou octovou získaných z kostní dřeně nebo z periferní krve.

Popis produktu

Translokační/dvoufúzní sonda XL BCR/ABL1 plus se skládá z oranžově značené sondy hybridizující s oblastí genu *ABL1* na 9q34.1 a zeleně značené sondy hybridizující s oblastí genu *BCR* na 22q11.2.

Známa křížová reaktivita

Nejsou známy žádné nespecifické hybridizace.

Poskytnuté materiály

100 µl (10 testů) XL BCR/ABL1 plus, sonda je rozpuštěna v hybridizačním roztoku (> 50 % v/v formamid, < 30 % w/v dextran sulfátu a < 2x SSC (fyziologický roztok - citrát sodný)) a připravena k použití.

Omezení

Analýzu, interpretaci dat a hlášení diagnostických nálezů získaných metodou FISH by měl provádět kvalifikovaný a zkušený personál v souladu s odbornými normami a příslušnými pokyny. Produkt není určen k použití jako samostatná diagnostika, screening onemocnění nebo jako doprovodná diagnostika. Diagnostické vyšetření získané tímto produktem se proto vždy provádí ve spojení s jinými diagnostickými metodami. Odchytky od protokolů výrobce mohou ovlivnit robustnost a výkonnost testu a mohou vést k zavádějícím výsledkům. Mapy sond jsou vytvořeny v souladu s určeným účelem výrobku. Plně barevné pruhy nemusí nutně znamenat, že sonda zcela pokrývá uvedenou genomickou oblast. Zobrazeny jsou pouze mezery větší než 10 kb. Proto se doporučuje opatrnost při interpretaci výsledků získaných při použití mimo schválené pokyny (off-label). Další informace jsou k dispozici na vyžádání.

Jako německý výrobce a distributor IVD se společnost MetaSystems Probes řídí platnými evropskými a německými předpisy, které zakazují jakákoli prohlášení týkající se interpretace údajů o pacientovi, respektive diagnostických a terapeutických doporučení.

Skladování a manipulace

Sondy by měly být skladovány ve tmě při teplotě -20 °C (±5 °C). Bylo prokázáno, že spolehlivost sondy není ovlivněna až 20 cykly zmrazování a rozmrazování. Sondy jsou citlivé na světlo, proto je třeba při manipulaci s nimi omezit působení světla na minimum.

Přeprava

Produkty vyráběné společností MetaSystems Probes jsou dodávány při pokojové teplotě.

Potřebné, ale nedodané vybavení a materiály

- Vodní lázeň s přesnou regulací teploty
- Vyhřívaná plotýnka s pevnou deskou a přesnou regulací teploty
- Mikropipety s objemy od 1 µl do 1 ml, kalibrované
- pH metr, kalibrovaný
- Mraznička -20 °C (±5 °C)
- Zvlhčovací komora 37 °C (± 1 °C)
- Fluorescenční mikroskop s vhodnými filtry (viz níže)
- Imerzní olej doporučený výrobcem mikroskopu (fluorescenční třída).
- Teploměr
- DAPI/antifade
- Pryžové lepidlo
- Mikroskopická sklíčka
- Krycí sklíčka (skleněná): 22 mm x 22 mm a 24 mm x 32 mm
- Rukavice
- Sklenice Coplin
- Pinzeta
- 20x SSC
- Tween-20
- Destilovaná voda
- Mikrocentrifuga
- Časovač

Specifikace fluorochromu

Značení	Excitační max.	Emisní max.
Zelená	505 nm	530 nm
Oranžová	552 nm	576 nm

Doporučení pro fluorescenční mikroskop

- Fluorescenční osvětlení: Vhodné metalhalogenidové nebo LED fluorescenční osvětlovací systémy nebo běžné 100wattové rtuťové výbojky.
- Objektivy vhodné pro epi-fluorescenční osvětlení.
- Fluorescenční filtry: Pro prohlížení/počítání použijte vhodnou sadu vícepásmových filtrů. Pro snímání obrázků nebo pozorování jednotlivých barevných kanálů na mikroskopu použijte vhodné sady jednopásmových filtrů pro příslušné fluorochromy (např. od společnosti MetaSystems).

Princip testu

Fluorescenční hybridizace in situ (FISH) k detekci komplementárních sekvencí DNA ve fixovaných buňkách pro pozorování pod fluorescenčním mikroskopem využívá fragmenty DNA, do nichž jsou začleněny nukleotidy spojené s fluoroforem. DNA vybraných sond a DNA pacienta jsou denaturovány, což znamená, že jsou oddělena dvě vlákna dvoušroubovice DNA. Během následné renaturace sondy DNA hybridizují s komplementárními sekvencemi DNA pacienta.

Příprava vzorku

Obecné připomínky

Výrobek je určen k použití v souladu se stanoveným účelem. Ne všechny uvedené metody přípravy musí být pro danou sondu relevantní. Buněčné suspenze se připravují z nestimulovaných či stimulovaných krátkodobých kultur aspirátů kostní dřeně, plné krve nebo uvolněných jednotlivých buněk z postižených lymfatických uzlin po pečlivém rozmělnění uzlinové tkáně. U mnohočetného myelomu se doporučuje obohatit preparát CD138+ plazmatickými buňkami (např. magnetickou separací buněk) nebo je in situ identifikovat pomocí vhodné fluorescenčně značené protilátky (clg-FISH). Příprava buněk se obvykle zpracovává podle protokolů určených pro cytogenetickou analýzu, včetně zastavení buněčného cyklu v metafázi, hypotonického ošetření a fixace metanolem a kyselinou octovou. Takto fixované buněčné suspenze se před hybridizací nakapou na čistá sklíčka. Vzorek by měl být připraven podle standardů cytogenetických postupů (např. podle The AGT Cytogenetics Laboratory Manual, 4th Edition, pro lymfomy viz také Campbell et al (2015) Pathology 37:493-507 a Ross (2004) Curr Diagn Pathol 10:345-350, pro obohacení CD138+ buněk viz také Cumova et al (2010) Int J Hematol 92:314-319 a pro clg-FISH viz také Gole et al (2012) Blood 120:4792).

Stabilita hybridizovaných preparátů

- Hybridizované preparáty FISH lze analyzovat po dobu nejméně šesti měsíců, pokud jsou skladovány ve tmě při -20 °C (±5 °C).

Další doporučení k postupu

- Pro měření teplot roztoků, vodních lázní a inkubátorů se důrazně doporučuje používat kalibrovaný teploměr, protože tyto teploty jsou rozhodující pro optimální výkonnost produktu.
- Pečlivě kontrolujte teplotu předehřátých roztoků.
- Pečlivě zkontrolujte hodnotu pH všech roztoků. Ta musí být v rozmezí 7,0 - 7,5 při pokojové teplotě.
- Důležité jsou, teplota a koncentrace pufrů (stringence) a pH, protože nízká stringence může vést k nespecifické vazbě sondy a příliš vysoká stringence může vést ke snížení intenzity signálů

nebo jeho vymizení.

- Před otevřením: krátce otočte, abyste shromáždili sondu na dně zkušavky.

Protokol FISH pro DNA sondy společnosti MetaSystems

Příprava preparátů

1. Vzorek buněk nakapejte na mikroskopické sklíčko. Nechte zaschnout na vzduchu. Pokud sklíčka nepoužijete během několika následujících dnů, uchovávejte je při -20 °C (±5 °C).
2. Aplikujte 10 µl sondy.
3. Zakryjte krycím sklíčkem 22 mm x 22 mm.
4. Utěsňte pomocí pryžového lepidla.

Denaturace

1. Denaturujte vzorek a sondu současně zahříváním sklíčka na plotýnce při teplotě 75 °C (±1 °C) po dobu 2 min.

Hybridizace

1. Inkubujte ve zvlhčovací komoře při 37 °C (±1 °C) přes noc.

Odmytí po hybridizaci

Požadované roztoky

- 0,4x SSC (pH 7,0 - 7,5) při 72 °C (±1 °C)
- 2x SSC, 0,05 % Tween-20 (pH 7,0) při pokojové teplotě

Postup

1. Opatrně odstraňte krycí sklíčko a všechny stopy lepidla.
2. Promývejte sklíčko v 0,4x SSC (pH 7,0) při 72 °C (±1 °C) po dobu 2 min.
3. Sklíčko nechte okapat a promývejte v 2x SSC, 0,05 % Tween-20 (pH 7,0) při pokojové teplotě po dobu 30 sekund.
4. Krátce opláchněte destilovanou vodou, abyste zabránili tvorbě krystalů, a nechte oschnout na vzduchu.

Barvení jader

Požadované roztoky:

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

Postup:

1. Naneste 10 µl DAPI/antifade a překryjte krycím sklíčkem o rozměrech 24 x 32 mm.
2. Inkubujte po dobu 10 min.
3. Proveďte mikroskopii a analýzu.
4. Sklíčka skladujte při -20 °C (±5 °C).

Očekávané výsledky

Zobrazeny jsou pouze nejčastější konstelace signálů, lze pozorovat i jiné relevantní vzorce signálů.

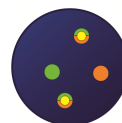
Normální buňka:

Dva zelené (2G) a dva oranžové (2O) signály.



Aberantní buňka (typické výsledky):

Jeden zelený (1G), jeden oranžový (1O) a dva zeleno-oranžové kolokalizační/fúzní signály (2GO), které jsou výsledkem reciproké translokace mezi příslušnými lokusy.



Analytické hodnocení

Údaje o analytickém hodnocení byly shromážděny s použitím interfázních jader z kultur lymfocytů stimulovaných PHA. Odběr buněk byl proveden podle cytogenetických standardů. Ekvivalence výsledků mezi nestimulovanými kulturami kostní dřeně a lymfocyty stimulovanými PHA byla zajištěna srovnávací studií.

Analytická specifita

Specifita se vypočítá jako procento správně detekovaných objektů z celkového počtu detekovaných objektů.

Vypočítaná analytická specifita je 100 % po 20 hodnocených metafázích od 5 různých karyotypově normálních mužů.

Analytická citlivost

Analytická citlivost se vypočítá jako procento interfázních jader, která mají očekávané normální uspořádání signálů, z celkového počtu analyzovaných interfázních jader. Bylo analyzováno uspořádání signálů u 400 jader od každého z 10 karyotypově normálních jedinců.

Míra odchylky od průměru je vyjádřena relativní směrodatnou odchylkou (% RSD).

Vzor	Citlivost	% RSD
2G 2O (normální)	95.7 %	1.5 %

Cut-Off

Mezní hodnota (cut-off) pro kvalitativní test je hranice, při jejímž překročení je výsledek považován za pozitivní a při jejímž nedosažení je výsledek považován za negativní.

Hraniční hodnota byla vypočtena na základě hybridizace sondy na interfázních jádrech 10 jedinců s normálním karyotypem. Hodnoty cut-off jsou založeny na 400 hodnocených jádrech od každého.

Vzor	Cut-Off
2GO 1G 1O	1.2 %

Mezní hodnota je informativní a závisí na rozličných parametrech souvisejících s laboratorii. Proto musí být pro diagnostické použití hodnoty cut-off stanoveny individuálně každou laboratorii.

Přesnost (reprodukovatelnost/opakovatelnost)

Reprodukovatelnost je míra shody mezi výsledky studií analytické citlivosti provedených za různých podmínek (den, šarže a vzorek). Pro každou podmínku byly provedeny tři analýzy vždy se 100 jádry.

Reprodukovatelnost se udává jako stupeň odchylky od průměru pomocí relativní směrodatné odchylky (% RSD).

Podmínky	Reprodukovatelnost % RSD
Day-to-Day stejná šarže a stejná osoba ve třech dnech	0.6 %
Lot-to-Lot stejná osoba a den se třemi šaržemi	1.6 %
Sample-to-Sample stejná šarže a den se třemi jedinci	2.8 %

Opakovatelnost je míra shody mezi studiemi provedenými za stejných podmínek. Samostatné studie opakovatelnosti nebyly prováděny, protože stupeň odchylky od průměru ve studiích reprodukovatelnosti za různých podmínek byl stanoven s relativní směrodatnou odchylkou ≤5 % (% RSD). Proto byl vyvozen závěr o stupni odchylky od průměru za stejných podmínek s relativní směrodatnou odchylkou ≤5 % (% RSD).

Klinické hodnocení

Publikovaná literatura

Tvrzení o klinické účinnosti výrobku s ohledem na zamýšlený účel byla podložena vědeckou literaturou vztahující se k výrobku a stavu, který je výrobkem analyzován.

- Culen et al (2016) Oncotarget 7:33016-33024
- Ashok et al (2017) Asian Pac J Cancer Prev 18:3457-3464
- Trojani et al (2017) Cancer Biomark 21:41-53
- Trojani et al (2019) PLoS One 14:e0218444
- Balducci et al (2020) Leuk Lymphoma 61:209-212
- Shoumariyeh et al (2020) Br J Haematol 190:e339-e343
- El Ashry et al (2021) Int J Lab Hematol 43:235-243

Publikované zkušenosti získané rutinním diagnostickým testováním

Údaje z rutinních diagnostických testů byly získány z evropských diagnostických laboratoří a zveřejněny na webových stránkách MetaSystems Probes (viz příslušný bezpečnostní list v příslušné sekci ke stažení pro tento konkrétní produkt). Přítomnost cílového markeru v pozitivních případech a nepřítomnost v negativních případech zjištěná pomocí FISH byla potvrzena referenčními technologiemi (analýza chromozomového pruhování a PCR s reverzní transkripcí). Testovaná kohorta zahrnuje pacienty s potvrzenou nebo suspektní ALL, AML, CML/MPN, MDS a HES. Vzorky byly získány z kostní dřeně a periferní krve.

Přeusořadání	Počet případů	Diagnostická citlivost	Diagnostická specifita
BCR::ABL1- přestaveb, t(9;22) (q34.1;q11.2)	14134	99.3 %*	100 %

*31 out of 14134 cases analyzed showed a negative FISH result but chromosome banding analysis revealed a t(9;22)(q34;q11). These cases were classified as false negative for FISH. For 21 of these cases RT-PCR results were available showing that the number of positive cells was below the detection limit for FISH.

Další zdroje údajů o klinickém hodnocení

Vyhodnocení diagnostických validačních údajů shromážděných v rámci IVDD a klasifikovaných jako jiné zdroje údajů o klinickém výkonu ukazuje, že XL BCR/ABL1 plus správně identifikoval všech 14 analyzovaných aberantních případů.

Postup kontroly kvality

Před prvním použitím tohoto výrobku v diagnostice je třeba ověřit, zda funguje podle očekávání. Je třeba vzít v úvahu pokyny a doporučení pro zavádění nových testů FISH v diagnostice (např. CLSI Fluorescence In Situ Hybridization Methods for Clinical Laboratories; Approved Guideline - Second Edition).

Bezpečnostní pokyny

Všechny sondy vyráběné společností MetaSystems Probes jsou určeny pouze pro profesionální použití a měl by je používat kvalifikovaný a vyškolený personál. Pro zajištění bezpečného provozu a reprodukovatelných výsledků dodržujte níže uvedená bezpečnostní upozornění a výstražné značky.

	NEBEZPEČÍ
Obsahuje:	Formamid
Standardní věty o nebezpečnosti:	H360FD Může poškodit plodnost. Může poškodit nenarozené dítě. H351 Podezření na způsobení rakoviny. H373 Může způsobit poškození orgánů při dlouhodobé nebo opakované expozici.
Pokyny pro bezpečné zacházení:	P201 Před použitím si vyžádejte zvláštní pokyny. P260 Nedýchejte prach/dým/plyn/mlhu/výpary/stříkance. P280 Používejte ochranné rukavice/ochranný oděv. P308+ P313 POKUD jste vystaveni nebo se Vás to týká: Vyhledejte lékařskou pomoc/opatření. P501 Zneškodněte obsah/kontejner v souladu s místními/regionálními/národními/mezinárodními předpisy.
Speciální značení:	Omezeno na profesionální uživatele.
	POZOR: Horká vodní lázeň a horké vyhřívané plotýnky! Pro denaturaci a hybridizaci se používají horké vodní lázně a horké vyhřívané plotýnky s teplotou >37 °C. Dávejte pozor, abyste se nedostali do přímého kontaktu s horkými povrchy nebo kapalinami. Používejte rukavice a laboratorní plášť. V případě kontaktu s kůží okamžitě ochlaďte studenou vodou.
	POZOR: Správná laboratorní praxe! Používejte v souladu se zásadami správné laboratorní praxe.

Hlášení nežádoucích událostí

Jakákoli závažná událost, ke které došlo v souvislosti s prostředkem, musí být nahlášena výrobci a příslušnému orgánu členského státu, ve kterém je uživatel a/nebo pacient evidován.

Řešení problémů

Problém	Potenciální příčina (příčiny)	Doporučené řešení
V mikroskopu nejsou detekovány žádné signály FISH.	- Uzavřená clona odraženého světla / posuvník stojí v dráze světla. - Zdroj světla je vypnutý. - V cestě světla je nesprávný fluorescenční filtr. - Objektiv je mimo správnou pozici. - Fototubus je v poloze pro fotoaparát.	- Otevřete závěrku / posuňte jezdec mimo dráhu světla. - Zapněte světlo. - Přesuňte správný filtr do dráhy světla. - Posuňte objektiv do dráhy světla. - Přesměrujte dráhu světla do okulárů.
Hybridizační signály po určité době zeslábnou.	Imerzní olej pronikl mezi sklíčko a krycí sklo.	Vyměňte krycí sklíčko a DAPI/antifade. Použijte krycí sklíčko 24 mm x 32 mm, i když je hybridizována pouze malá oblast.
Rozptýlené signály.	- Přípravek není dostatečně osvětlen - Rovinu zaostření nelze správně nastavit.	- Zkontrolujte optickou dráhu mikroskopu. Správně nastavte UV světlo. Zkontrolujte životnost UV lampy. - Používejte dostatečné množství imerzního oleje. Nemíchejte různé imerzní oleje. Používejte imerzní olej vhodný pro fluorescenci. - Vrstva proti vyblednutí (DAPI/antifade) je příliš silná pro zaostření. Nepoužívejte příliš velké množství DAPI/antifade. Stačí 10 µl na sklíčko (krycí sklíčko 24 mm x 32 mm). - Použijte vhodné krycí sklíčka.
Slabé signály.	- Příprava preparátů je příliš stará. - Denaturace není dostatečná.	- Preparáty by neměly být starší než dva týdny. Pokud sklíčka v této době nepoužijete, skladujte je při teplotě -20 °C (±5 °C). - Zestaršování, zapékání nebo další fixace mohou inhibovat hybridizaci a nedoporučují se. - Zvyšte teplotu denaturace na 80 °C nebo prodlužte dobu denaturace na 3 minuty.
Slabé modré nebo zelené signály nebo vysoce difúzní pozadí v zeleném barevném kanálu.	- Intenzita DAPI je příliš vysoká, což vede k přesvěcování na filtru AQUA nebo ZELENÁ filtru. - hodnota pH mycích roztoků je příliš nízká.	- Použijte speciální jednopásmový filtr. - Použijte DAPI/antifade o nízké koncentraci.
Vysoké nespecifické pozadí.	Zbývající cytoplazmatické proteiny buněk mohou narušit hybridizaci.	- Zajistěte, aby hodnota pH roztoků byla mezi 7,0 a 7,5. Některé zelené fluorofory jsou velmi citlivé na pH nižší než 7. - Předem preparáty ošetřete pepsinem (před hybridizací).

Pokud doporučená opatření problém nevyřeší nebo váš problém není uveden v seznamu, kontaktujte společnost MetaSystems Probes.

Zákaznická podpora

Kontaktujte prosím společnost MetaSystems Probes GmbH (kontaktní údaje viz níže).



MetaSystems Probes GmbH
1. Industriestrasse 7
68804 Altlussheim
Německo

Tel: +49 (0)6205 292760
Fax: +49 (0)6205 2927629
e-mail: info@metasystems-probes.com
webové stránky: www.metasystems-probes.com

Společnost MetaSystems Probes se zřiká jakéhokoli vlastnického zájmu na značkách a názvech jiných společností.

Přehled o bezpečnosti a výkonnosti najdete na webových stránkách <https://ec.europa.eu/tools/eudamed/#/screen/home> nebo se informujte na adrese info@metasystems-probes.com.

Použité symboly

Symbol	Popis
	Označuje zdravotnický prostředek, který je určen k použití jako diagnostický zdravotnický prostředek in vitro.
	Značka shody, která označuje, že zařízení je ve shodě s platnými regulačními požadavky v Evropské unii.
	Označuje výrobce zdravotnického prostředku.
	Označuje, že při obsluze zařízení nebo ovládacího prvku v blízkosti místa, kde je symbol umístěn, je třeba dbát zvýšené opatrnosti, nebo že aktuální situace vyžaduje pozornost obsluhy nebo její zásah, aby se zabránilo nežádoucím následkům.
	Označuje, že je třeba, aby si uživatel prostudoval návod k použití.

Revize dokumentu

Revize	Datum vydání	Indikace pro změnu
CZ-CE-IVD-RevA250311-250318v10.2	18.03.2025	Aktualizované IFU podle NAŘÍZENÍ (EU) 2017/746 o diagnostických zdravotnických prostředcích in vitro. Aktualizace nemá přímý vliv na vlastnosti prostředku a nemá dopad na složení nebo složky našich výrobků. Nemá také vliv na způsob použití našich výrobků, ale vyvolává změny informací poskytovaných s výrobkem jako označení, určení a návod k použití.