IVD CE 2797

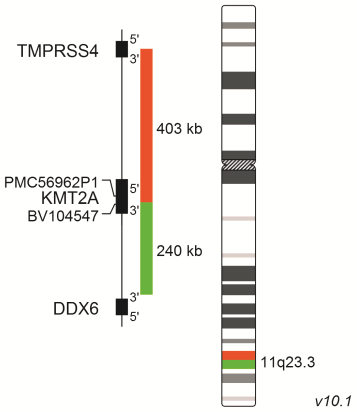
Instruktion til brug

Kun til professionel brug

MetaSystems Probes

Yderligere oplysninger og andre sprog findes på www.metasystems-probes.com
e-mail: info@metasystems-probes.com

Produkt	Mærkning	Reference nr.	UDI-DI	Pakke størrelse
XL KMT2A BA	orange/grøn	D-5090-100-OG	04251315812291	100 µl



Tilsigtet formål

XL KMT2A BA break-apart-proben er en kvalitativ, ikke-automatiseret test til påvisning af *KMT2A*-rearrangementer ved 11q23.3 ved hjælp af fluorescens in situ-hybridisering (FISH). Produktet er beregnet som et diagnostisk hjælpemiddel og hjælper med sygdomsovervågning. Testpopulationen består af patienter med bekræftet eller mistænkt akut lymfoblastisk leukæmi (ALL) og akut myeloid leukæmi (AML). Hybridisering skal udføres på methanol/eddikesyre-fikserede celler fra knoglemarv eller perifert blod.

Beskrivelse af produktet

XL KMT2A BA break-apart-proben består af en orangemærket probe, der hybridiserer proksimalt til *KMT2A*-genregionen ved 11q23.3 og strækker sig ind i genet op til intron 24, og en grønmærket probe, der hybridiserer distalt til *KMT2A*-genregionen ved 11q23.3 og strækker sig ind i genet op til intron 20 og dermed overlapper hinanden i 3,4 kb (GRCh37/hg19).

Kendt krydsreaktivitet

Ingen kendte krydshybridiseringer.

Udleverede materialer

100 µl (10 tests) af XL KMT2A BA, proben er opløst i hybridiseringsopløsning (> 50 % v/v formamid, < 30 % w/v dextransulfat og < 2x SSC (saltvand-natriumcitrat)) og klar til brug.

Begrænsninger

Analyse, datatolkning og rapportering af diagnostiske resultater ved hjælp af FISH skal udføres i overensstemmelse med professionelle normer og relevante retningslinjer af kvalificeret og erfarent personale. Produktet er ikke beregnet til brug som en selvstændig diagnostik, sygdomsscreening eller som en ledsagende diagnostik. En diagnostisk undersøgelse med dette produkt foretages derfor altid i forbindelse med andre diagnostiske metoder. Afvigelser fra producentens protokoller kan påvirke testens robusthed og ydeevne og kan resultere i misvisende resultater. Probekort er oprettet i overensstemmelse med produktets tilsigtede formål. Ensfarvede søjler betyder ikke nødvendigvis, at proben dækker den angivne genomiske region fuldstændigt. Kun sektioner større end 10 kb er vist. Derfor tilrådes forsigtighed ved fortolkning af resultater, der er genereret ved off-label-brug. Yderligere oplysninger kan fås på anmodning.

Som tysk baseret IVD-producent og -distributør følger MetaSystems Probes de gældende europæiske og tyske regler, som forbyder enhver erklæring om fortolkning af patientrelaterede data samt diagnostiske og terapeutiske anbefalinger.

Opbevaring og håndtering

Proberne skal opbevares i mørke ved -20 °C (±5 °C). Det er påvist, at probens ydeevne er upåvirket i op til 20 fryse-tø-cyklusser. Proberne er lysfølsomme, og derfor bør eksponering for lys begrænses til et minimum under håndtering.

Forsendelse

Produkter produceret af MetaSystems Probes sendes ved stuetemperatur.

Nødvendigt, men ikke leveret udstyr og materialer

- Vandbad med nøjagtig temperaturkontrol
- Varmeplade med solid plade og præcis temperaturkontrol
- Mikropipetter med volumen fra 1 µl til 1 ml, kalibreret
- pH-meter, kalibreret
- Fryser -20 °C (±5 °C)
- Befugtet kammer 37 °C (± 1 °C)
- Fluorescensmikroskop med passende filtre (se nedenfor)
- Immersionsolie, anbefalet af mikroskopets producent (fluorescerende kvalitet)
- Termometer
- DAPI/antifade
- Gummicement
- Objektglas til mikroskop
- Dækglas: 22 mm x 22 mm og 24 mm x 32 mm
- Handsker
- Coplin krukker
- Tænger
- 20x SSC
- Tween-20
- Destilleret vand
- Mikrocentrifuge
- Timer

Fluorokrom specifikation

Mærkning	Excitationmaks.	Emissionsmaks.
Grøn	505 nm	530 nm
Orange	552 nm	576 nm

Anbefaling af fluorescensmikroskop

- Fluorescensbelysning: Egnede metalhalogenid- eller LED-fluorescensbelysningssystemer eller konventionelle 100 watt kviksølvlampe lyskilde.
- Objektiver egnet til epi-fluorescerende belysning.
- Fluorescensfiltre: Brug et passende multibandpas-filtersæt til visning/tælling. Til optagelse af billeder eller observation af individuelle farvekanaler på mikroskopet skal du bruge egnede single bandpass-filtersæt til de respektive fluorokromer (f.eks. fra MetaSystems).

Testprincip

Fluorescens in situ-hybridisering (FISH) bruger DNA-fragmenter, hvori fluorofor-koblede nukleotider er inkorporeret, til at detektere komplementære DNA-sekvenser i fikserede celler under et fluorescensmikroskop. DNA'et fra de udvalgte prober og patientens DNA denatureres, hvilket betyder, at de to DNA-strenge i dobbelthelixen adskilles. Under den efterfølgende renaturering hybridiserer DNA-proberne til komplementære sekvenser af patientens DNA.

Forberedelse af prøver

Generelle kommentarer

Produktet er designet til specifik brug for det tilsigtede formål. Methanol/eddikesyre-fikserede celler fremstilles fra knoglemarvsaspirater eller perifert blod. Yderligere detaljer om standardprocedurer kan findes i laboratoriemanualer og publikationer (f.eks. The AGT Cytogenetics Laboratory Manual, 4. udgave).

Stabilitet af hybridiserede objektglas

- Hybridiserede FISH-slides kan analyseres i mindst seks måneder, hvis de opbevares i mørke ved -20 °C (±5 °C).

Yderligere procesanbefalinger

- Det anbefales kraftigt at bruge et kalibreret termometer til at måle temperaturer i opløsninger, vandbade og inkubatorer, da disse temperaturer er afgørende for optimal produktydelse.
- Kontrollér omhyggeligt temperaturen på de forvarmede opløsninger.
- Kontrollér omhyggeligt pH-værdien af alle opløsninger. Den skal ligge i intervallet 7,0 - 7,5 ved stuetemperatur.
- Koncentrationerne af buffere (stringens), pH og temperatur er vigtige, fordi lav stringens kan føre til uspecifik binding af proben, mens for høj stringens kan føre til reduceret signalintensitet eller manglende signaler.
- Før åbning: centrifuger kortvarigt for at opsamle proben i bunden af røret.

FISH-protokol for MetaSystems' DNA-prober

Forberedelse af objektglas

1. Lad celleprøven falde ned på objektglasset. Lad det lufttørre. Hvis objektglassene ikke skal bruges inden for de næste par dage, skal de opbevares ved -20 °C (±5 °C).
2. Påfør 10 µl probe.
3. Dæk med dækglas 22 mm x 22 mm.
4. Forsegl med gummicement.

Denaturering

1. Denaturér prøve og probe samtidigt ved at opvarme objektglasset på en varmeplade ved 75 °C (±1 °C) i 2 minutter.

Hybridisering

1. Inkuber i et fugtigt kammer ved 37 °C (±1 °C) natten over.

Vask efter hybridisering

Nødvendige løsninger

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

Fremgangsmåde

1. Fjern forsigtigt dækglasset og alle spor af lim.
2. Vask objektglasset i 0,4x SSC (pH 7,0) ved 72 °C (±1 °C) i 2 minutter.
3. Tøm objektglasset, og vask det i 2x SSC, 0,05 % Tween-20 (pH 7,0) ved stuetemperatur i 30 sekunder.
4. Skyl kortvarigt i destilleret vand for at undgå krystaldannelse, og lad det lufttørre.

Modfarvning

Nødvendige løsninger:

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

Fremgangsmåde:

1. Påfør 10 µl DAPI/antifade, og monter med et 24 mm x 32 mm dækglas.
2. Lad DAPI/antifade trænge ind i 10 minutter.
3. Fortsæt med mikroskopi og analyse.
4. Opbevar objektglassene ved -20 °C (±5 °C).

Forventede resultater

Kun de hyppigste signalkonstellationer er vist, andre relevante signalmønstre kan observeres.

Normal celle:
To grøn-orange kolokaliserings-/fusionssignaler (2GO).



Afvigende celle (typiske resultater):
Ét grøn-orange kolokaliserings-/fusionssignal (1GO) samt ét separat grønt (1G) og ét separat orange (1O) signal, hver som følge af et kromosombrud i det respektive locus. Translokationer med brudpunkter inden for *KMT2A* breakpoint cluster-regionen resulterer i et lille orange splitsignal, der forbliver sammen med det separerede grønne signal. Det resterende orange signal er betydeligt mindre end det separerede orange signal og kan endda være usynligt.



Afvigende celle (typiske resultater):
To grøn-orange kolokaliserings-/fusionssignaler (2GO) samt ét separat, sædvanligvis lille orange (1O) signal, hvilket indikerer en insertion af den respektive genomiske region i et ukendt kromosom.



Analytisk ydeevne

Analytiske præstationsdata blev indsamlet ved hjælp af interfase-kerner fra PHA-stimulerede lymfocytkulturer. Cellehøsten blev udført i henhold til cytogenetiske standarder. Ækvivalens af resultater mellem ustimulerede knoglemarvskulturer og PHA-stimulerede lymfocytter blev sikret ved en sammenlignende undersøgelse.

Analytisk specificitet

Specificiteten beregnes som procentdelen af korrekt detekterede targets ud af det samlede antal detekterede targets.

Den beregnede analytiske specificitet er 100 % efter 20 evaluerede metafaser fra 5 forskellige karyotypisk normale mænd.

Analytisk følsomhed

Analytisk følsomhed beregnes som procentdelen af interfase-kerner, der har det forventede normale signalmønster, ud af det samlede antal analyserede interfase-kerner. Signalmønsteret for 400 kerner fra hver af 10 karyotypisk normale individer blev analyseret.

Graden af afvigelse fra gennemsnittet repræsenteres af den relative standardafvigelse (% RSD).

Mønster	Følsomhed	% RSD
2GO (normal)	99.8 %	0.3 %

Cut-Off

Cut-off for en kvalitativ test er den tærskel, over hvilken resultatet betragtes som positivt, og under hvilken resultatet betragtes som negativt.

Cut-off-værdien blev beregnet ud fra probehybridiseringer på interfase-kerner fra 10 karyotypisk normale individer. Cut-off-værdierne er baseret på 400 scorede kerner hver.

Mønster	Cut-Off
1GO 1G 1O	1.6 %

Cut-off-værdien er informativ og afhænger af flere laboratorierelaterede parametre. Derfor skal cut-off-værdier til diagnostisk brug bestemmes individuelt af hvert laboratorium.

Præcision (reproducerbarhed/repeterbarhed)

Reproducerbarhed er graden af overensstemmelse mellem resultaterne af analytiske følsomhedsundersøgelser udført under forskellige forhold (dag, parti og prøve). For hver betingelse blev der udført tre analyser med 100 kerner i hver.

Reproducerbarheden angives som graden af afvigelse fra gennemsnittet ved hjælp af den relative standardafvigelse (% RSD).

Betingelser	Reproducerbarhed % RSD
Dag-til-dag samme parti og samme individ på tre dage	0.6 %
Parti-til-parti samme individ og dag med tre partier	1.0 %
Prøve-til-prøve samme parti og dag med tre individer	0.6 %

Repeterbarhed er graden af overensstemmelse mellem undersøgelser udført under de samme betingelser. Der blev ikke udført separate repeterbarhedsundersøgelser, da graden af afvigelse fra gennemsnittet i reproducerbarhedsundersøgelser under forskellige forhold blev bestemt med ≤5 % relativ standardafvigelse (% RSD). Derfor blev der konkluderet en grad af afvigelse fra gennemsnittet under samme betingelser med ≤5 % relativ standardafvigelse (% RSD).

Klinisk ydeevne

Udgivet litteratur

Produktets påstande om klinisk ydeevne med hensyn til det tilsigtede formål er blevet understøttet af videnskabelig litteratur, der er relevant for produktet og den tilstand, der analyseres med produktet.

- 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

Offentliggjort erfaring med rutinemæssig diagnostisk testning

Data fra rutinemæssig diagnostisk testning blev indhentet fra europæiske diagnostiske laboratorier og offentliggjort på MetaSystems Probes' hjemmeside (se det respektive ydelsesdatablad i det tilsvarende downloadafsnit for dette specifikke produkt). Tilstedeværelsen af målmarkøren i positive tilfælde og fraværet i negative tilfælde påvist ved FISH blev bekræftet ved hjælp af referenceteknologier (kromosombåndanalyse). Testkohorten omfatter patienter med bekræftet eller mistænkt ALL, AML, CMML, MDS, MPN og NHL. Prøverne blev taget fra knoglemarv og perifert blod.

Omlægning	Antal tilfælde	Diagnostisk følsomhed	Diagnostisk specificitet
KMT2A-rearrangementer ved 11q23.3	1538	100 %	100 %

Andre kilder til kliniske præstationsdata

Evaluering af de diagnostiske valideringsdata, der er indsamlet som en del af IVDD og klassificeret som andre kilder til kliniske præstationsdata, viser, at XL KMT2A BA korrekt identificerede alle de 16 analyserede afvigende tilfælde.

Procedure for kvalitetskontrol

Før første brug af dette produkt i diagnostik, bør det verificeres, at det fungerer som forventet. Vejledning og anbefalinger til implementering af nye FISH-tests i diagnostik skal overvejes (f.eks. CLSI Fluorescence In Situ Hybridization Methods for Clinical Laboratories; Approved Guideline - Second Edition).

Sikkerhedsinstruktioner

Alle prober produceret af MetaSystems Probes er kun til professionel brug og bør anvendes af kvalificeret og uddannet personale. For at sikre sikker drift og reproducerbare resultater bedes du overholde nedenstående sikkerhedsmeddelelser og advarselsskilte.



FARE

Indeholder:	Formamid
Faresætninger:	H360FD Kan skade forplantningsevnen. Kan skade det ufødte barn. H351 Mistænkt for at fremkalde kræft. H373 Kan forårsage organskader ved længerevarende eller gentagen eksponering.
Forsigtighedsregler:	P201 Indhent særlige instruktioner før brug. P260 Indånd ikke støv/røg/gas/tåge/dampe/spray. P280 Brug beskyttelseshandsker/beskyttelsestøj. P308+ P313 HVIS udsat eller bekymret: Søg lægehjælp/opmærksomhed. P501 Indholdet/beholderen bortskaffes i overensstemmelse med lokale/regionale/nationale/internationale bestemmelser.
Særlig mærkning:	Begrænset til professionelle brugere.



FORSIGTIG: Varmt vandbad og varmeplader!

Til denaturering og hybridisering anvendes varmtvandsbade og varmeplader med temperaturer på >37 °C. Pas på ikke at komme i direkte kontakt med varme overflader eller væsker.

Brug handsker og kittel. I tilfælde af kontakt med huden, afkøles straks med koldt vand.



OBS: God laboratoriepraksis!

Anvendes i overensstemmelse med principperne for god laboratoriepraksis.

Rapportering af utilsigtede hændelser

Enhver alvorlig hændelse, der har fundet sted i forbindelse med udstyret, skal indberettes til fabrikanten og den kompetente myndighed i den medlemsstat, hvor brugeren og/eller patienten er etableret.

Fejlfinding

Problem	Potentiel(le) årsag(er)	Anbefalet løsning
Der registreres ingen FISH-signaler i mikroskopet.	• Reflekteret lys lukker lukket / stopskyder i lysvejen.	• Åbn lukkeren / flyt stopskyderen ud af lysbanen.
	• Lyskilden er slukket.	• Tænd for lyskilden.
	• Forkert fluorescensfilter er i lysvejen.	• Flyt det korrekte filter ind i lysbanen.
	• Objektivet er ikke i korrekt position.	• Drej objektivet ind i lysbanen.
	• Fototuben er i kameraposition.	• Direkte lysvej til okularerne.
Hybridiserings-signalerne bliver svage efter et stykke tid.	• Immersionsolien er trængt ind mellem objektglasset og dækglasset.	• Udskift dækglas og DAPI/antifade. Brug 24 mm x 32 mm dækglas, selv hvis kun et lille område hybridiseres.
Diffuse signaler.	• Forberedelsen er ikke tilstrækkeligt belyst.	• Kontrollér mikroskopets lysvej. Juster UV-lyset korrekt. Kontrollér UV-lampens levetid.
	• Fokusplanet kan ikke justeres korrekt.	• Brug tilstrækkeligt med immersionsolie. Bland ikke forskellige immersionsolier. Brug immersionsolie, der er egnet til fluorescens. • Antifade-laget er for tykt til fokusering. Brug ikke for meget DAPI/antifade. 10 µl pr. objektglas (24 mm x 32 mm dækglas) er tilstrækkeligt. • Brug egnede dækglas.
Svage signaler.	• Præparatet på objektglasset er for gammelt.	• Objektglassene bør ikke være ældre end to uger. Hvis objektglassene ikke bruges inden for denne periode, skal de opbevares ved -20 °C (±5 °C).
	• Denaturering er ikke tilstrækkelig.	• Ældning, bagning eller yderligere fiksering kan hæmme hybridiseringen og anbefales ikke. • Øg denatureringstemperaturen op til 80 °C eller øg denatureringstiden til 3 min.
	• Et multibandpas-filter bruges til visning.	• Brug et dedikeret single bandpas-filter.
Svage blå (aqua) eller grønne signaler eller høj diffus baggrund i den grønne farvekanal.	• DAPI-intensiteten er for høj, hvilket resulterer i "cross talk" til AQUA-filteret eller det GRØNNE filter.	• Brug DAPI/antifade i lav koncentration.
	• pH-værdien i vaskeopløsningerne er for lav.	• Sørg for, at pH-værdien er mellem 7,0 og 7,5 i opløsningerne. Nogle grønne fluoroforer er meget følsomme over for pH-værdier under 7,0.
Høj uspecifik baggrund.	• Resterende cytoplasmatiske proteiner i cellerne kan forringe hybridiseringen.	• Forbehandl objektglassene med Pepsin.
Hvis de anbefalede foranstaltninger ikke løser problemet, eller hvis dit problem ikke er anført, bedes du kontakte MetaSystems Probes.		

Kundeservice

Kontakt venligst MetaSystems Probes GmbH (kontaktoplysninger se nedenfor) eller vores autoriserede distributør i dit land.

MetaSystems Probes GmbH
1. Industriestrasse 7
68804 Altlussheim
Tyskland

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

MetaSystems Probes fralægger sig enhver ejendomsretlig interesse i andres mærker og navne.

For *Summary of Safety and Performance* besøg hjemmesiden https://ec.europa.eu/tools/eudamed/#/screen/home eller spørg på info@metasystems-probes.com.

Brugte symboler

Symbol	Beskrivelse
IVD	Angiver et *medicinsk udstyr,* der er beregnet til at blive brugt som et *medicinsk udstyr* til in vitro-diagnostik.
CE	Overensstemmelsesmærke, der angiver, at en enhed er i overensstemmelse med de gældende lovkrav i EU.
	Angiver *producenten af det medicinske udstyr.*
	Angiver, at der skal udvises forsigtighed, når enheden eller betjeningselementet betjenes tæt på det sted, hvor *symbolet* er placeret, eller at den aktuelle situation kræver opmærksomhed eller handling fra operatørens side for at undgå uønskede konsekvenser.
	Angiver behovet for, at brugeren konsulterer *brugsanvisningen*.

Revision af dokument

Revision	Udgivelses dato	Indikationer for ændringer
DK-CE-IVD-RevB261013-260505v10.1	25.11.2026	Opdateret IFU i henhold til FORORDNING (EU) 2017/746 om medicinsk udstyr til in vitro-diagnostik. Opdateringen påvirker ikke udstyrets egenskaber direkte og har ingen indflydelse på sammensætningen eller ingredienserne i vores produkter. Den påvirker heller ikke den måde, vores produkter anvendes på, men udløser ændringer i de oplysninger, der følger med produktet som etiketter, tilsigtet formål og brugsanvisninger.