IVD CE 2797

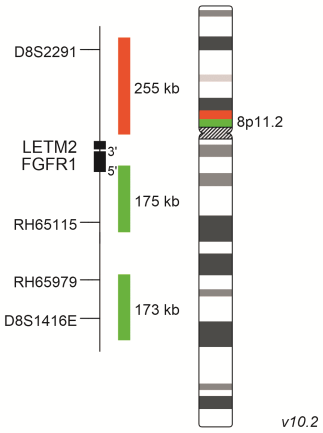
Instrucciones de uso

Sólo para uso profesional

MetaSystems Probes

Más información y otros idiomas disponibles en www.metasystems-probes.com
correo electrónico: info@metasystems-probes.com

Producto	Marcado	Nº de referencia	UDI-DI	Tamaño del envase
XL FGFR1	verde/naranja	D-5041-100-OG	04251315812024	100 µl



Finalidad de uso

La sonda XL FGFR1 break-apart es una prueba cualitativa no automatizada para la detección de reordenamientos *FGFR1* en 8p11.2 mediante hibridación fluorescente in situ (FISH). El producto está pensado como ayuda diagnóstica y asiste en el seguimiento de la enfermedad. El grupo de prueba estuvo conformado por pacientes con neoplasias mieloides/linfoides con eosinofilia y fusiones del gen de la tirosina quinasa (MLN-TK), leucemia linfoblástica aguda (LLA) y leucemia mieloide aguda (LMA) confirmadas o sospechosas. La hibridación debe realizarse en células fijadas en metanol/ácido acético derivadas de médula ósea o sangre periférica.

Descripción del producto

La sonda XL FGFR1 break-apart consiste en una sonda marcada en verde que se hibrida proximalmente a la región 8p11.2 del gen *FGFR1* y una sonda marcada en naranja que se hibrida distalmente a la región 8p11.2 del gen *FGFR1*.

Reactividad cruzada conocida

No se conocen hibridaciones cruzadas.

Materiales proporcionados

100 µl (10 ensayos) de XL FGFR1, la sonda está disuelta en solución de hibridación (> 50 % v/v de formamida, < 30 % p/v de sulfato de dextrano y < 2x SSC (citrato salino-sódico)) y lista para su uso.

Limitaciones

El análisis, la interpretación de los datos y la notificación de los resultados diagnósticos recibidos por FISH deben ser realizados de acuerdo con las normas profesionales y las directrices pertinentes por personal cualificado y experimentado. El producto no está diseñado para su uso como diagnóstico independiente, cribado de enfermedades o diagnóstico complementario. Por lo tanto, una investigación diagnóstica obtenida mediante este producto se realiza siempre en conjunción con otros métodos diagnósticos. Las desviaciones de los protocolos del fabricante pueden afectar a la solidez y el rendimiento de la prueba y dar lugar a resultados engañosos. Los mapas de sondas se crean de acuerdo con la uso previsto del producto. Las barras de color sólido no significan necesariamente que la sonda cubra completamente la región genómica indicada. Sólo se muestran los espacios superiores a 10 kb. Por lo tanto, se recomienda precaución a la hora de interpretar los resultados generados mediante el uso no indicado. Para más información, consúltenos.

Como fabricante y distribuidor de IVD con sede en Alemania, MetaSystems Probes sigue las normativas europeas y alemanas vigentes, que prohíben cualquier declaración relativa a la interpretación de datos relacionados con el paciente, así como las recomendaciones diagnósticas y terapéuticas, respectivamente.

Almacenamiento y manipulación

Las sondas deben almacenarse en la oscuridad a -20 °C (±5 °C). Se ha demostrado que el rendimiento de las sondas no se ve afectado durante un máximo de 20 ciclos de congelación-descongelación. Las sondas son fotosensibles, por lo que la exposición a la luz debe limitarse al mínimo durante su manipulación.

Envío

Los productos fabricados por MetaSystems Probes se envían a temperatura ambiente.

Equipos y materiales necesarios pero no suministrados

- Baño de agua con control preciso de la temperatura
- Placa calefactora, con placa sólida y control preciso de la temperatura
- Micropipetas calibradas con volúmenes comprendidos entre 1 µl y 1 ml
- pH-metro, calibrado
- Congelador -20 °C (±5 °C)
- Cámara humidificada 37 °C (± 1 °C)
- Microscopio de fluorescencia con filtros adecuados (véase más abajo)
- Aceite de inmersión, recomendado por el fabricante del microscopio (grado de fluorescencia)
- Termómetro
- DAPI/antifade
- Pegamento de caucho
- Portaobjetos
- Cubreobjetos (vidrio): 22 mm x 22 mm y 24 mm x 32 mm
- Guantes
- Jarras Coplin
- Pinzas
- 20x SSC
- Tween-20
- Agua destilada
- Microcentrífuga
- Temporizador

Especificación de fluorocromos

Marcado	Excitación máx.	Emisión máx.
Verde	505 nm	530 nm
Naranja	552 nm	576 nm

Recomendación sobre el microscopio de fluorescencia

- Iluminación de fluorescencia: Sistemas adecuados de iluminación por fluorescencia de halogenuros metálicos o LED o iluminadores convencionales de lámparas de mercurio de 100 vatios.
- Objetivos adecuados para iluminación epifluorescente.
- Filtros de fluorescencia: Para la visualización y el contaje, utilice un juego de filtros multibanda adecuado. Para capturar imágenes u observar canales de color individuales en el microscopio, utilice juegos de filtros de paso de banda individual adecuados para los respectivos fluorocromos (por ejemplo, de MetaSystems).

Principio de prueba

La hibridación fluorescente in situ (FISH) utiliza fragmentos de ADN en los que se incorporan nucleótidos acoplados a fluoróforos para detectar secuencias complementarias de ADN en células fijadas bajo un microscopio de fluorescencia. El ADN de las sondas seleccionadas y el ADN del paciente se desnaturalizan, lo que significa que las dos cadenas de ADN de la doble hélice se separan. Durante la renaturalización posterior, las sondas de ADN se hibridan con secuencias complementarias del ADN del paciente.

Preparación de la muestra

Comentarios generales

El producto está diseñado para el uso especificado en la finalidad de uso.
Las células fijadas en metanol/ácido acético se preparan a partir de aspirados de médula ósea o sangre periférica. Se pueden encontrar más detalles sobre los procedimientos estándar en manuales y publicaciones de laboratorio (por ejemplo, The AGT Cytogenetics Laboratory Manual, 4th Edition).

Estabilidad de los portaobjetos hibridados

- Los portaobjetos FISH hibridados pueden analizarse durante al menos seis meses si se almacenan en la oscuridad a -20 °C (±5 °C).

Recomendaciones adicionales sobre el proceso

- Se recomienda encarecidamente el uso de un termómetro calibrado para medir las temperaturas de las soluciones, los baños de agua y las incubadoras, ya que estas temperaturas son críticas para el rendimiento óptimo del producto.
- Compruebe cuidadosamente la temperatura de las soluciones precalentadas.
- Compruebe cuidadosamente el valor de pH de todas las soluciones. Debe estar entre 7,0 y 7,5 a temperatura ambiente.
- Las concentraciones de los tampones (rigurosidad), el pH y la temperatura son importantes porque una rigurosidad baja puede provocar la unión inespecífica de la sonda y una rigurosidad demasiado alta puede reducir la intensidad de la señal o hacerla desaparecer.
- Antes de abrir: centrifugar brevemente para recoger la sonda del fondo del tubo.

Protocolo FISH para sondas de ADN de MetaSystems

Preparación del portaobjetos

1. Dispensar la muestra de células sobre el portaobjetos. Dejar secar al aire. Si los portaobjetos no se utilizan en los días siguientes, guardarlos a -20 °C (±5 °C).
2. Aplicar 10 µl de sonda.
3. Tapar con cubreobjetos 22 mm x 22 mm.
4. Sellar con pegamento de caucho.

Desnaturalización

1. Desnaturalizar la muestra y la sonda simultáneamente calentando el portaobjetos en una placa calefactora a 75 °C (±1 °C) durante 2 min.

Hibridación

1. Incubar en una cámara húmeda a 37 °C (±1 °C) durante toda la noche.

Lavados posteriores a la hibridación

Soluciones necesarias

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

Procedimiento

1. Retirar con cuidado el cubreobjetos y todos los restos de pegamento.
2. Lavar el portaobjetos en 0,4x SSC (pH 7,0) a 72 °C (±1 °C) durante 2 min.
3. Escurrir el portaobjetos y lavar en 2x SSC, 0,05 % Tween-20 (pH 7,0) a temperatura ambiente durante 30 segundos.
4. Enjuagar brevemente en agua destilada para evitar la formación de cristales y dejar secar al aire.

Tinción de Contraste

Soluciones necesarias:

- DAPI/antifade (por ejemplo, MetaSystems Probes DAPI/antifade, D-0902-500-DA)

Procedimiento:

1. Aplicar 10 µl de DAPI/antifade y tapar con un cubreobjetos de 24 mm x 32 mm.
2. Permitir la penetración de DAPI/antifade durante 10 min.
3. Proceder al análisis en el microscopio de fluorescencia.
4. Guardar los portaobjetos a -20 °C (±5 °C).

Resultados esperados

Sólo se muestran las constelaciones de señales más frecuentes, pueden observarse otros patrones de señales relevantes.

Célula normal:
Dos señales de colocalización/fusión verde-naranja (2GO).

Célula aberrante (resultados típicos):
Una señal de colocalización/fusión verde-naranja (1GO), una señal verde (1G) y naranja (1O) separadas, cada una resultante de una rotura cromosómica en el locus respectivo.

Rendimiento analítico

Los datos de rendimiento analítico se obtuvieron utilizando núcleos en interfase procedentes de cultivos de linfocitos estimulados con PHA. La recolección de células se realizó de acuerdo con las normas citogenéticas. La equivalencia de los resultados entre los cultivos de médula ósea no estimulados y los linfocitos estimulados con PHA se garantizó mediante un estudio comparativo.

Especificidad analítica

La especificidad se calcula como el porcentaje de objetivos correctamente detectados sobre el número total de objetivos detectados.

La especificidad analítica calculada es del 100 % tras 20 metafases evaluadas de 5 varones diferentes cariotípicamente normales.

Sensibilidad analítica

La sensibilidad analítica se calcula como el porcentaje de núcleos interfásicos que tienen el patrón de señal normal esperado sobre el número total de núcleos interfásicos analizados. Se analizó el patrón de señales de 400 núcleos de cada una de las muestras procedentes de 10 individuos cariotípicamente normales.

El grado de desviación de la media se representa mediante la desviación estándar relativa (% RSD).

Patrón	Sensibilidad	% RSD
2GO (normal)	99.7 %	0.4 %

Punto de corte

El punto de corte de una prueba cualitativa es el umbral por encima del cual el resultado se considera positivo y por debajo del cual se considera negativo.

El valor de corte se calculó a partir de hibridaciones con sonda en núcleos interfásicos de 10 individuos cariotípicamente normales. Los valores de corte se basan en 400 núcleos contados cada uno.

Patrón	Corte
1GO 1G 1O	1.9 %

El valor de corte es informativo y depende de varios parámetros relacionados con el laboratorio. Por lo tanto, para su uso diagnóstico, los valores de corte deben ser determinados individualmente por cada laboratorio.

Precisión (reproducibilidad/repetibilidad)

La reproducibilidad es el grado de concordancia entre los resultados de los estudios de sensibilidad analítica realizados en condiciones diferentes (día, lote y muestra). Para cada condición se realizaron tres análisis con 100 núcleos cada uno.

La reproducibilidad se da como el grado de desviación de la media por la desviación estándar relativa (% RSD).

Condiciones	Reproducibilidad % RSD
Día a día mismo lote y mismo individuo en tres días	0.0 %
Lote a lote mismo individuo y día con tres lotes	0.0 %
Muestra a muestra mismo lote y día con tres individuos	0.0 %

La repetibilidad es el grado de concordancia entre estudios realizados en las mismas condiciones. No se realizaron estudios de repetibilidad por separado, ya que el grado de desviación de la media en estudios de reproducibilidad en condiciones diferentes se determinó con ≤5 % de desviación estándar relativa (% RSD). Por lo tanto, se concluyó un grado de desviación de la media en condiciones iguales con ≤5 % de desviación estándar relativa (% RSD).

Rendimiento clínico

Literatura publicada

Las afirmaciones sobre el rendimiento clínico del producto con respecto a la finalidad prevista han sido respaldadas por la literatura científica pertinente al producto y a la afección que se analiza con el producto.

- Yang et al (2012) Acta Haematol. 127:119-123
- Lee et al (2013) Int J Hematol. 97:808-812
- Malli et al (2016) Genes Chromosomes Cancer. 55:60-68
- Shetty et al (2020) Int J Res Med Sci. 8:1556-1563
- Cho et al (2022) Ann Lab Med. 42:485-487

Publicaciones de la experiencia adquirida con las pruebas diagnósticas de rutina

Los datos de las pruebas de diagnóstico rutinarias se obtuvieron de laboratorios de diagnóstico europeos y se publicaron en el sitio web de MetaSystems Probes (véase la hoja de datos de rendimiento respectiva en la sección de descargas correspondiente a este producto específico). La presencia del marcador objetivo en los casos positivos y la ausencia en los casos negativos detectados por FISH se confirmó mediante tecnologías de referencia (análisis de bandas cromosómicas). El grupo de prueba incluyó pacientes con LLA, LMA, LLC, LMC, LMMC, SMD, SMD/NMP, NMP y NML-TK confirmadas o sospechosas. Las muestras se obtuvieron de médula ósea y sangre periférica.

Reorganización	Nº de casos	Sensibilidad diagnóstica	Especificidad diagnóstica
Reordenamientos *FGFR1* en 8p11.2	802	100 %	100 %

Otras fuentes de datos de rendimiento clínico

La evaluación de los datos de validación diagnóstica recogidos como parte del DIVD y clasificados como otras fuentes de datos de rendimiento clínico muestra que XL FGFR1 identificó correctamente los 6 casos aberrantes analizados.

Procedimiento de control de calidad

Antes del uso inicial de este producto en diagnóstico, debe verificarse que su rendimiento es el esperado. Deben tenerse en cuenta las directrices y recomendaciones para la aplicación de nuevas pruebas FISH en el diagnóstico (por ejemplo, CLSI Fluorescence In Situ Hybridization Methods for Clinical Laboratories; Approved Guideline - Second Edition).

Instrucciones de seguridad

Todas las sondas fabricadas por MetaSystems Probes son exclusivamente para uso profesional y deben ser utilizadas por personal cualificado y formado. Para garantizar un funcionamiento seguro y resultados reproducibles, tenga en cuenta los avisos de seguridad y las señales de precaución que se indican a continuación.

PELIGRO

Contiene:	Formamida
Indicaciones de peligro:	H360FD Puede perjudicar la fertilidad. Puede perjudicar al feto. H351 Se sospecha que provoca cáncer. H373 Puede provocar daños en los órganos tras exposiciones prolongadas o repetidas.
Indicaciones de precaución:	P201 Obtenga instrucciones especiales antes de su uso. P260 No respirar el polvo/el humo/el gas/la niebla/los vapores/el aerosol. P280 Llevar guantes/ropa de protección. P308+ P313 EN CASO DE exposición o preocupación: Consultar a un médico. P501 Eliminar el contenido/el recipiente de acuerdo con la normativa local/regional/nacional/internacional.
Etiquetado especial:	Restringido a usuarios profesionales.

PRECAUCIÓN: ¡Baño de agua caliente y placas calientes!

Para la desnaturalización y la hibridación se utilizan baños de agua y placas calientes con temperaturas >37°C. Tenga cuidado de no entrar en contacto directo con superficies o líquidos calientes.
Llevar guantes y bata de laboratorio. En caso de contacto con la piel, enfriar inmediatamente con agua fría.

ATENCIÓN: ¡Buenas prácticas de laboratorio!

Utilizar de acuerdo con los principios de buenas prácticas de laboratorio.

Notificación de acontecimientos adversos

Cualquier incidente grave que se haya producido en relación con el producto deberá notificarse al fabricante y a la autoridad competente del Estado miembro en el que esté establecido el usuario y/o el paciente.

Solución de problemas

Problema	Causa(s) potencial(es)	Solución recomendada
No se detectan señales FISH en el microscopio.	• Obturador de luz reflejada cerrado / control deslizante de parada en el recorrido de la luz.	• Abrir el obturador / mueva el control deslizante de parada fuera de la trayectoria de la luz.
	• La lámpara de fluorescencia apagada.	• Encender la lámpara de fluorescencia.
	• Filtro de fluorescencia incorrecto en la trayectoria de la luz.	• Colocar el filtro correcto en la trayectoria de la luz.
	• El objetivo está fuera de posición.	• Colocar el objetivo en la trayectoria de la luz.
	• El fototubo está en posición de cámara.	• Ponga el fototubo en posición oculares.
Las señales de hibridación se debilitan al cabo de un tiempo.	• El aceite de inmersión ha penetrado entre el portaobjetos y el cubreobjetos.	• Volver a colocar el cubreobjetos y DAPI/antifade. Utilizar cubreobjetos de 24 mm x 32 mm aunque sólo se hibride una pequeña región.
Señales difusas.	• La preparación no está adecuadamente iluminada.	• Comprobar el camino óptico del microscopio. Ajustar correctamente la luz UV. Comprobar la vida útil de la lámpara UV.
	• El plano de enfoque no se puede ajustar correctamente.	• Utilizar suficiente aceite de inmersión. No mezclar diferentes aceites de inmersión. Utilizar aceite de inmersión adecuado para fluorescencia. • La capa antifade es demasiado gruesa para el enfoque. No utilizar demasiado DAPI/antifade. 10 µl por portaobjetos (cubreobjetos de 24 mm x 32 mm) son suficientes. • Utilizar cubreobjetos adecuados.
Señales débiles.	• La preparación del portaobjetos es demasiado antigua.	• Los portaobjetos no deben tener más de dos semanas. Si los portaobjetos no se utilizan en este plazo, consérvense a -20 °C (±5 °C).
	• La desnaturalización no es adecuada.	• El envejecimiento, la cocción o la fijación posterior pueden inhibir la hibridación y no se recomiendan. • Aumentar la temperatura de desnaturalización hasta 80 °C o aumentar el tiempo de desnaturalización hasta 3 min.
	• Para la visualización se utiliza un filtro multibanda.	• Utilizar un filtro paso banda dedicado.
Señales aqua o verde débiles o fondo muy difuso en el canal de color verde.	• La intensidad de DAPI es demasiado alta, lo que provoca una interferencia con el filtro AQUA o el filtro VERDE.	• Utilizar DAPI/antifade de baja concentración.
	• El pH de las soluciones de lavado es demasiado bajo.	• Asegurarse de que el pH de las soluciones está entre 7,0 y 7,5. Algunos fluoróforos verdes son muy sensibles a pH inferiores a 7.
Fondo altamente inespecífico.	• Las proteínas citoplasmáticas restantes de las células pueden dificultar la hibridación.	• Pretratar los portaobjetos con pepsina.
Si las medidas recomendadas no solucionan el problema, o su problema no aparece en la lista, póngase en contacto con MetaSystems Probes.		

Atención al cliente

Póngase en contacto con MetaSystems Probes GmbH (ver datos de contacto más abajo).

MetaSystems Probes GmbH
1. Industriestrasse 7
68804 Altlussheim
Alemania

Tel.: +49 (0)6205 292760
Fax: +49 (0)6205 2927629
correo electrónico: info@metasystems-probes.com
sitio web: www.metasystems-probes.com

MetaSystems Probes renuncia a cualquier interés de propiedad en las marcas y nombres de terceros.

Para consultar *el Resumen de Seguridad y Rendimiento*, visite el sitio web https://ec.europa.eu/tools/eudamed/#/screen/home o pregunte en info@metasystems-probes.com.

Símbolos utilizados

Símbolo	Descripción
IVD	Indica un *producto sanitario* destinado a ser utilizado como *producto sanitario* para diagnóstico in vitro.
CE	Marca de conformidad que indica que un dispositivo cumple los requisitos reglamentarios aplicables en la Unión Europea.
	Indica el *fabricante del producto sanitario.*
	Indica que es necesario actuar con precaución al utilizar el dispositivo o control cerca de donde está colocado el *símbolo*, o que la situación actual requiere la atención o la actuación del operador para evitar consecuencias no deseadas.
	Indica la necesidad de que el usuario consulte las *instrucciones de uso*.

Revisión del documento

Revisión	Fecha de publicación	Indicación de cambio
ES-CE-IVD-RevA250404-250630v10.2	08.09.2025	IFU actualizada conforme al REGLAMENTO (UE) 2017/746 sobre productos sanitarios para diagnóstico in vitro. La actualización no afecta directamente a las características del producto ni a su composición o ingredientes. Tampoco influye en la forma en que se aplican nuestros productos, pero provoca cambios en la información proporcionada con el producto como etiquetas, finalidad prevista e instrucciones de uso.