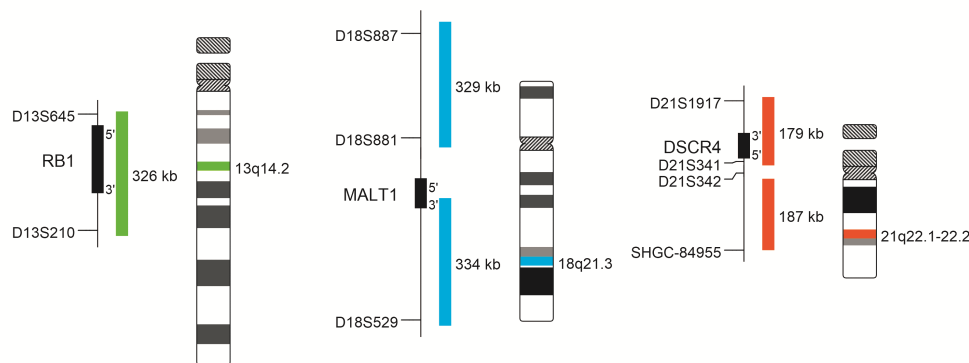




Más información y otros idiomas disponibles en [www.metasystems-probes.com](http://www.metasystems-probes.com)  
correo electrónico: [info@metasystems-probes.com](mailto:info@metasystems-probes.com)

| Producto    | Marcado            | Nº de referencia | UDI-DI         | Tamaño del envase |
|-------------|--------------------|------------------|----------------|-------------------|
| XA 13/18/21 | verde/azul/naranja | D-5607-100-TC    | 04251315811997 | 100 µl            |



v20.2

## Finalidad de uso

La sonda de enumeración XA 13/18/21 es una prueba cualitativa no automatizada para la detección de variaciones en el número de copias del cromosoma 13, el cromosoma 18 y el cromosoma 21 mediante hibridación fluorescente in situ (FISH). El producto está destinado a pruebas prenatales de embarazos con riesgo de trisomía 13, trisomía 18 y trisomía 21 en amniocitos no cultivados fijados con metanol/ácido acético.

## Descripción del producto

La sonda de enumeración XA 13/18/21 consiste en una sonda marcada en verde que hibrida con la región 13q14.2 del gen *RB1*, una sonda marcada en azul que hibrida con la región 18q21.3 del gen *MALT1* y una sonda marcada en naranja que hibrida con la región 21q22.1-22.2 del gen *DSCR4*.

## Reactividad cruzada conocida

No se conocen hibridaciones cruzadas.

## Materiales proporcionados

100 µl (10 ensayos) de XA 13/18/21, 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. |
|-------------|-----------------|--------------|
| Azul (aqua) | 426 nm          | 480 nm       |
| 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 conteo, 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.

Los amniocitos fijados con metanol/ácido acético se preparan a partir de líquido amniótico. Los detalles sobre los procedimientos estándar pueden encontrarse en manuales y publicaciones de laboratorio (por ejemplo, The AGT Cytogenetics Laboratory Manual, 4th Edition y Schwartz (2015) Curr Protoc Hum Genet 85:8.9.1-8.9.16).

### 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

- 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).
- Aplicar 10 µl de sonda.
- Tapar con cubreobjetos 22 mm x 22 mm.
- Sellar con pegamento de caucho.

### Desnaturalización

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

### Hibridación

- 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

- Retirar con cuidado el cubreobjetos y todos los restos de pegamento.
- Lavar el portaobjetos en 0,4x SSC (pH 7,0) a 72 °C (±1 °C) durante 2 min.
- Escurrir el portaobjetos y lavar en 2x SSC, 0,05 % Tween-20 (pH 7,0) a temperatura ambiente durante 30 segundos.
- 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:

- Aplicar 10 µl de DAPI/antifade y tapar con un cubreobjetos de 24 mm x 32 mm.
- Permitir la penetración de DAPI/antifade durante 10 min.
- Proceder al análisis en el microscopio de fluorescencia.
- 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 verdes (2G), dos naranjas (2O) y dos azules (2B).



### Célula aberrante:

Tres señales verdes (3G), dos naranjas (2O) y dos azules (2B).



### Célula aberrante:

Dos señales verdes (2G), tres naranjas (3O) y dos azules (2B).



### Célula aberrante:

Dos señales verdes (2G), dos naranjas (2O) y tres azules (3B).



## 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 amniocitos no cultivados 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 |
|-------------------|--------------|-------|
| 2G 2O 2B (normal) | 99.1 %       | 0.7 % |

### 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 |
|----------|-------|
| 3G 2O 2B | 1.9 % |
| 2G 3O 2B | 2.3 % |
| 2G 2O 3B | 2.6 % |

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<br>mismo lote y mismo individuo en tres días    | 0.6 %                  |
| Lote a lote<br>mismo individuo y día con tres lotes       | 0.0 %                  |
| Muestra a muestra<br>mismo lote y día con tres individuos | 0.6 %                  |

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  $\leq 5$  % de desviación estándar relativa (% RSD). Por lo tanto, se concluyó un grado de desviación de la media en condiciones iguales con  $\leq 5$  % de desviación estándar relativa (% RSD).

## Rendimiento clínico

Publicaciones de la experiencia adquirida con las pruebas diagnósticas de rutina

Los datos obtenidos de pruebas diagnósticas rutinarias fueron proporcionados por laboratorios de diagnóstico europeos y publicados en el sitio web de MetaSystems Probes (consulta la hoja de datos de rendimiento correspondiente en la sección de descargas de este producto específico). La presencia del marcador objetivo en los casos positivos y su ausencia en los casos negativos detectados por FISH fue confirmada mediante tecnologías de referencia (análisis de bandas cromosómicas). El grupo de prueba incluye pacientes con embarazos de riesgo de trisomía 13, trisomía 18 y trisomía 21. Las muestras se obtuvieron a partir de amniocitos no cultivados.

| Reorganización                                    | Nº de casos | Sensibilidad diagnóstica | Especificidad diagnóstica |
|---------------------------------------------------|-------------|--------------------------|---------------------------|
| Variaciones del número de copias del cromosoma 13 | 933         | 100 %                    | 100 %                     |
| Variaciones del número de copias del cromosoma 18 | 876         | 100 %                    | 100 %                     |
| Variaciones del número de copias del cromosoma 21 | 933         | 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 XA 13/18/21 identificó correctamente los 18 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.

|                                                                                     |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                       |
|-------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|    | <b>PELIGRO</b>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        |
| Contiene:                                                                           | Formamida                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             |
| Indicaciones de peligro:                                                            | H360FD Puede perjudicar la fertilidad. Puede perjudicar al feto.<br>H351 Se sospecha que provoca cáncer.<br>H373 Puede provocar daños en los órganos tras exposiciones prolongadas o repetidas.                                                                                                                                                                                       |
| Indicaciones de precaución:                                                         | P201 Obtenga instrucciones especiales antes de su uso.<br>P260 No respirar el polvo/el humo/el gas/la niebla/los vapores/el aerosol.<br>P280 Llevar guantes/ropa de protección.<br>P308+ P313 EN CASO DE exposición o preocupación: Consultar a un médico.<br>P501 Eliminar el contenido/el recipiente de acuerdo con la normativa local/regional/nacional/internacional.             |
| Etiquetado especial:                                                                | Restringido a usuarios profesionales.                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 |
|    | <b>PRECAUCIÓN: ¡Baño de agua caliente y placas calientes!</b><br>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.<br>Llevar guantes y bata de laboratorio. En caso de contacto con la piel, enfriar inmediatamente con agua fría. |
|  | <b>ATENCIÓN: ¡Buenas prácticas de laboratorio!</b><br>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.                                                                            | • Enciender 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.                                                                                                                                                                                                                                                                                                             |
| Las señales de hibridación se debilitan al cabo de un tiempo.                                                                            | • El fototubo está en posición de cámara.                                                                         | • Ponga el fototubo en posición ocular.                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        |
|                                                                                                                                          | • 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.<br>• 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.<br>• 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.<br>• 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 azul 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 AZUL 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](mailto:info@metasystems-probes.com)  
sitio web: [www.metasystems-probes.com](http://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](mailto:info@metasystems-probes.com).

## Símbolos utilizados

| Símbolo | Descripción                                                                                                                                                                                                                                           |
|---------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|         | Indica un <i>producto sanitario</i> destinado a ser utilizado como <i>producto sanitario</i> para diagnóstico in vitro.                                                                                                                               |
|         | Marca de conformidad que indica que un dispositivo cumple los requisitos reglamentarios aplicables en la Unión Europea.                                                                                                                               |
|         | Indica el <i>fabricante del producto sanitario</i> .                                                                                                                                                                                                  |
|         | Indica que es necesario actuar con precaución al utilizar el dispositivo o control cerca de donde está colocado el <i>símbolo</i> , 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 <i>instrucciones de uso</i> .                                                                                                                                                                      |

## Revisión del documento

| Revisión                         | Fecha de publicación | Indicación de cambio                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        |
|----------------------------------|----------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| ES-CE-IVD-RevA250404-250404v20.2 | 15.04.2025           | 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. |