

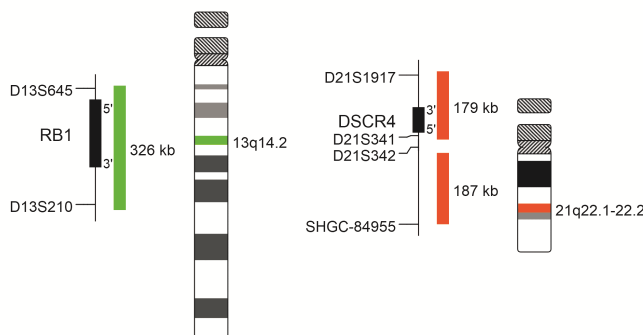


De plus amples informations et d'autres langues sont disponibles à l'adresse suivante

www.metasystems-probes.com

Courriel: info@metasystems-probes.com

Produit	Marquage	Numéro de référence	UDI-DI	Conditionnement
XA 13/21	vert/orange	D-5602-100-OG	04251315811959	100 µl



v20.2

Utilisation prévue

La sonde de dénombrement XA 13/21 est un test qualitatif non automatisé pour la détection des variations du nombre de copies du chromosome 13 et du chromosome 21 par hybridation in situ en fluorescence (FISH). Le produit est destiné au dépistage prénatal des grossesses à risque de trisomie 13 et de trisomie 21 sur des amniocytes non cultivés fixés au méthanol/acide acétique.

Description du produit

La sonde de dénombrement XA 13/21 se compose d'une sonde marquée en vert s'hybridant avec la région du gène *RB1* en 13q14.2 et d'une sonde marquée en orange s'hybridant avec la région du gène *DSCR4* en 21q22.1-22.2.

Réactivité croisée connue

Aucune hybridation croisée connue.

Matériel fourni

100 µl (10 tests) de XA 13/21, la sonde est dissoute dans une solution d'hybridation (> 50 % v/v formamide, < 30 % w/v dextran sulfate et < 2x SSC (saline-citrate de sodium)) et prête à l'emploi.

Limites

L'analyse, l'interprétation des données et la communication des résultats diagnostiques obtenus par FISH doivent être effectuées conformément aux normes professionnelles et aux lignes directrices pertinentes par un personnel qualifié et expérimenté. Le produit n'est pas destiné à être utilisé comme diagnostic autonome, pour le dépistage d'une maladie ou comme diagnostic complémentaire. Une investigation diagnostique obtenue par ce produit est donc toujours effectuée en conjonction avec d'autres méthodes diagnostiques. Tout écart par rapport aux protocoles du fabricant peut affecter la robustesse et les performances du test et entraîner des résultats trompeurs. Les cartes des sondes sont créées conformément à l'utilisation prévue du produit. Les barres colorées pleines ne signifient pas nécessairement que la sonde couvre entièrement la région génomique indiquée. Seules les lacunes supérieures à 10 kb sont indiquées. Il convient donc d'être prudent lors de l'interprétation des résultats obtenus dans le cadre d'une utilisation non prévue.

En tant que fabricant et distributeur de DIV basé en Allemagne, MetaSystems Probes respecte les réglementations européennes et allemandes en vigueur, qui interdisent toute déclaration concernant l'interprétation des données relatives au patient, ainsi que les recommandations diagnostiques et thérapeutiques, respectivement.

Stockage et manipulation

Les sondes doivent être conservées à l'abri de la lumière à -20 °C (±5 °C). Il a été démontré que les performances des sondes n'étaient pas affectées pendant 20 cycles de congélation-décongélation. Les sondes étant sensibles à la lumière, l'exposition à la lumière doit être limitée au minimum pendant la manipulation.

Expédition

Les produits fabriqués par MetaSystems Probes sont expédiés à température ambiante.

Équipements et matériels nécessaires mais non fournis

- Bain-marie avec contrôle précis de la température
- Plaque chauffante, avec plaque solide et contrôle précis de la température
- Micropipettes de 1 µl à 1 ml, calibrées
- pH-mètre, calibré
- Congélateur -20 °C (±5 °C)
- Chambre humidifiée 37 °C (± 1 °C)
- Microscope à fluorescence avec filtres appropriés (voir ci-dessous)
- Huile d'immersion, recommandée par le fabricant du microscope (qualité fluorescente)
- Thermomètre
- DAPI/antifade
- Rubber cement
- Lames de microscope
- Lamelle (verre): 22 mm x 22 mm et 24 mm x 32 mm
- Gants
- Jarre de Coplin
- Pince
- 20x SSC
- Tween-20
- Eau distillée
- Microcentrifugeuse
- Minuterie

Spécification du fluorochrome

Marquage	Excitation max.	Emission max.
Vert	505 nm	530 nm
Orange	552 nm	576 nm

Recommandation concernant le microscope à fluorescence

- Illumination par fluorescence: Systèmes d'éclairage de fluorescence aux halogénures métalliques ou à LED appropriés ou illuminateurs conventionnels à lampe à mercure de 100 watts.
- Objectifs adaptés à l'éclairage épifluorescent.
- Filtres de fluorescence: Pour la visualisation/le comptage, utilisez un ensemble de filtres passe-bande multiple approprié. Pour la capture d'images ou l'observation de canaux de couleur individuels au microscope, utilisez des jeux de filtres passe-bande unique appropriés pour les fluorochromes respectifs (par exemple, de MetaSystems).

Principe du test

L'hybridation in situ par fluorescence (FISH) utilise des fragments d'ADN dans lesquels des nucléotides couplés à des fluorophores sont incorporés pour détecter des séquences d'ADN complémentaires dans des cellules fixées sous un microscope à fluorescence. L'ADN des sondes sélectionnées et l'ADN du patient sont dénaturés, ce qui signifie que les deux brins d'ADN de la double hélice sont séparés. Lors de la renaturation ultérieure, les sondes ADN s'hybrident avec les séquences complémentaires de l'ADN du patient.

Préparation de l'échantillon

Commentaires généraux

Le produit est conçu pour une utilisation conforme à l'usage prévu. Les amniocytes fixés au méthanol/acide acétique sont préparés à partir du liquide amniotique. Des détails sur les procédures standard peuvent être trouvés dans les manuels de laboratoire et les publications (par exemple, The AGT Cytogenetics Laboratory Manual, 4th Edition et Schwartz (2015) Curr Protoc Hum Genet 85:8.9.1-8.9.16).

Stabilité des lames hybridées

- Les lames de FISH hybridées peuvent être analysées pendant au moins six mois si elles sont conservées dans l'obscurité à -20 °C (±5 °C).

Recommandations supplémentaires concernant le processus

- L'utilisation d'un thermomètre calibré est fortement recommandée pour mesurer la température des solutions, des bains-marie et des incubateurs, car ces températures sont essentielles pour une performance optimale du produit.
- Vérifier soigneusement la température des solutions préchauffées.
- Vérifiez soigneusement la valeur du pH de toutes les solutions. Elle doit être comprise entre 7,0 et 7,5 à température ambiante.
- Les concentrations des tampons (stringence), le pH et la température sont importants car une stringence insuffisante peut entraîner une liaison non spécifique de la sonde et une stringence trop élevée peut entraîner une réduction de l'intensité du signal ou une disparition des signaux.
- Avant l'ouverture: vortexer brièvement pour recueillir la sonde au fond du tube.

Protocole FISH pour les sondes ADN de MetaSystems

Préparation des lames

- Déposer l'échantillon cellulaire sur une lame de microscope. Laisser sécher à l'air. Si les lames ne sont pas utilisées dans les prochains jours, les conserver à -20 °C (±5 °C).
- Appliquer 10 µl de sonde.
- Couvrir avec une lamelle de 22 mm x 22 mm.
- Sceller à l'aide d'une colle en caoutchouc.

Dénaturation

- Dénaturer simultanément l'échantillon et la sonde en chauffant la lame sur une plaque chauffante à 75 °C (±1 °C) pendant 2 minutes.

Hybridation

- Incuber dans une chambre humidifiée à 37 °C (±1 °C) pendant la nuit.

Lavages Post-hybridation

Solutions requises

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

Procédure

- Retirer soigneusement la lamelle couvre-objet et toute trace de colle.
- Laver la lame dans 0,4x SSC (pH 7,0) à 72 °C (±1 °C) pendant 2 minutes.
- Egoutter la lame et la laver dans 2x SSC, 0,05 % Tween-20 (pH 7,0) à température ambiante pendant 30 secondes.
- Rincer brièvement à l'eau distillée pour éviter la formation de cristaux et laisser sécher à l'air.

Contre-colorant

Solutions requises:

- DAPI/antifade (par exemple, MetaSystems Probes DAPI/antifade, D-0902-500-DA)

Procédure:

- Appliquer 10 µl de DAPI/antifade et recouvrir d'une lamelle couvre-objet de 24 mm x 32 mm.
- Laisser pénétrer le DAPI/antifade pendant 10 minutes.
- Procéder à la microscopie et à l'analyse.
- Conserver les lames à -20 °C (±5 °C).

Résultats attendus

Seules les signaux les plus fréquentes sont représentées, d'autres modèles de signaux pertinents peuvent être observés.

Cellule normale:

Deux signaux verts (2G), deux signaux orange (2O).



Cellule anormale:

Trois signaux verts (3G) et deux signaux orange (2O).



Cellule anormale:

Deux signaux verts (2G) et trois signaux orange (3O).



Performance analytique

Les données de performance analytique ont été recueillies à partir de noyaux en interphase provenant de cultures de lymphocytes stimulées par la PHA. Le prélèvement des cellules a été effectué conformément aux normes cytogénétiques. L'équivalence des résultats entre les amniocytes non cultivés et les lymphocytes stimulés par la PHA a été assurée par une étude comparative.

Spécificité analytique

La spécificité est calculée comme le pourcentage de cibles correctes détectées par rapport au nombre total de cibles détectées.

La spécificité analytique calculée est de 100 % après 20 métaphases évaluées provenant de 5 hommes différents de caryotypes normaux.

Sensibilité analytique

La sensibilité analytique est calculée comme le pourcentage de noyaux interphasiques qui ont le profil de signal normal attendu sur le nombre total de noyaux interphasiques analysés. Le signal de 400 noyaux provenant de 10 individus de caryotypes normaux a été analysé.

Le degré d'écart par rapport à la moyenne est représenté par l'écart-type relatif (% RSD).

Pattern	Sensibilité	% RSD
2G 2O (normal)	99.1 %	0.8%

Seuil (Cut-off)

Le seuil d'un test qualitatif est le seuil au-dessus duquel le résultat est considéré comme positif et au-dessous duquel le résultat est considéré comme négatif.

La valeur seuil a été calculée sur la base d'hybridations de sondes sur des noyaux en interphase de 10 individus de caryotypes normaux. Les valeurs seuils sont basées sur 400 noyaux notés chacun.

Pattern	Cut-Off
3G 2O	3.3 %
2G 3O	1.9 %

La valeur seuil est informative et dépend de plusieurs paramètres liés au laboratoire. Par conséquent, pour une utilisation diagnostique, les valeurs seuils doivent être déterminées individuellement par chaque laboratoire.

Précision (reproductibilité/ répétabilité)

La reproductibilité est le degré de concordance entre les résultats des études de sensibilité analytique réalisées dans des conditions différentes (jour, lot et échantillon). Pour chaque condition, trois analyses ont été effectuées avec 100 noyaux chacune.

La reproductibilité est donnée par le degré de déviation de la moyenne par l'écart-type relatif (% RSD).

Conditions	Reproductibilité % RSD
Jour après jour même lot et même individu pendant trois jours	1.2 %
Lot-à-lot même personne et même jour avec trois lots	1.0 %
Échantillon à échantillon même lot et même jour avec trois individus	0.0 %

La répétabilité est le degré de concordance entre les études réalisées dans les mêmes conditions. Des études de répétabilité distinctes n'ont pas été réalisées, car le degré d'écart par rapport à la moyenne dans les études de reproductibilité réalisées dans des conditions différentes a été déterminé avec un écart-type relatif de ≤ 5 % (% RSD). Par conséquent, un degré d'écart par rapport à la moyenne dans des conditions égales avec ≤ 5 % d'écart-type relatif (% RSD) a été conclu.

Performance clinique

Publication de l'expérience acquise grâce aux tests de diagnostic de routine

Les données des tests de diagnostic de routine ont été obtenues auprès de laboratoires de diagnostic européens et publiées sur le site web de MetaSystems Probes (voir la fiche de performance correspondante dans la section de téléchargement correspondant à ce produit spécifique). La présence du marqueur cible dans les cas positifs et son absence dans les cas négatifs détectés par FISH ont été confirmées par des technologies de référence (analyse des caryotypes). La cohorte testée comprend des patientes présentant des grossesses à risque de trisomie 13 et de trisomie 21. Les échantillons ont été obtenus à partir d'amniocytes non cultivés.

Réarrangement	Nombre de cas	Sensibilité diagnostique	Spécificité diagnostique
Variations du nombre de copies du chromosome 13	933	100 %	100 %
Variations du nombre de copies du chromosome 21	933	100 %	100 %

Autres sources de données sur les performances cliniques

L'évaluation des données de validation diagnostique collectées dans le cadre de la DDIV et classées comme autres sources de données de performance clinique montre que XA 13/21 a correctement identifié les 16 cas aberrants analysés.

Procédure de contrôle de la qualité

Avant l'utilisation initiale de ce produit dans le domaine du diagnostic, il convient de vérifier qu'il fonctionne comme prévu. Il convient de tenir compte des orientations et des recommandations relatives à la mise en œuvre de nouveaux tests FISH dans le domaine du diagnostic (par exemple, CLSI Fluorescence In Situ Hybridization Methods for Clinical Laboratories ; Approved Guideline - Second Edition).

Consignes de sécurité

Toutes les sondes produites par MetaSystems Probes sont destinées à un usage professionnel uniquement et doivent être utilisées par un personnel qualifié et formé. Pour garantir un fonctionnement sûr et des résultats reproductibles, veuillez respecter les consignes de sécurité et les panneaux d'avertissement ci-dessous.

	DANGER
Contient:	Formamide
Mentions de danger:	H360FD Peut nuire à la fertilité. Peut nuire à l'enfant à naître. H351 Susceptible de provoquer le cancer. H373 Peut provoquer des lésions aux organes à la suite d'expositions répétées ou d'une exposition prolongée.
Conseils de prudence:	P201 Obtenir des instructions spéciales avant l'utilisation. P260 Ne pas respirer les poussières/fumées/gaz/brouillards/vapeurs/aérosols. P280 Porter des gants de protection/des vêtements de protection. P308+ P313 EN CAS d'exposition ou d'inquiétude: Consulter un médecin. P501 Éliminer le contenu/récipient conformément aux réglementations locales/régionales/nationales/internationales.
Étiquetage spécial:	Réservé aux utilisateurs professionnels.
	ATTENTION: Bain d'eau chaude et plaques chauffantes ! Pour la dénaturation et l'hybridation, des bains d'eau chaude et des plaques chauffantes sont utilisés à des températures supérieures à 37°C. Veillez à ne pas entrer en contact direct avec des surfaces ou des liquides chauds. Porter des gants et une blouse de laboratoire. En cas de contact avec la peau, refroidir immédiatement à
	ATTENTION: Bonnes pratiques de laboratoire ! Utiliser conformément aux principes de bonnes pratiques de laboratoire.

Rapport sur les événements indésirables

Tout incident grave lié au dispositif est signalé au fabricant et à l'autorité compétente de l'État membre dans lequel l'utilisateur et/ou le patient est établi.

Dépannage

Problème	Cause(s) potentielle(s)	Solution recommandée
Aucun signal FISH n'est détecté au microscope.	• Lumière réfléchie obturateur fermé / curseur d'arrêt dans le trajet de la lumière.	• Ouvrez l'obturateur / déplacez le curseur d'arrêt hors de la trajectoire de la lumière.
	• La lampe fluorescente est éteinte.	• Allumer la lampe fluorescente.
	• Le mauvais filtre de fluorescence se trouve sur le trajet de la lumière.	• Placer le filtre correct dans le trajet optique.
	• L'objectif n'est pas en position.	• Basculer l'objectif dans la trajectoire de la lumière.
	• Le phototube est en position de caméra.	• Trajet lumineux direct vers les oculaires.
Les signaux d'hybridation deviennent faibles après un certain temps.	• L'huile d'immersion a pénétré entre la lame de et la lamelle.	• Remplacer la lamelle et le DAPI/antifade. Utiliser une lamelle 24 mm x 32 mm même si seule une petite région est hybridée.
Signaux diffus.	• La préparation n'est pas suffisamment éclairée.	• Vérifier le trajet optique du microscope. Régler correctement la lumière UV. Vérifier la durée de vie de la lampe UV.
	• Le plan de mise au point ne peut pas être réglé correctement.	• Utiliser suffisamment d'huile d'immersion. Ne pas mélanger différentes huiles d'immersion. Utiliser une huile d'immersion adaptée à la fluorescence. • La couche d'antifade est trop épaisse pour permettre la mise au point. Ne pas utiliser trop de DAPI/antifade. 10 µl par lame (24 mm x 32 mm) sont suffisants. • Utiliser des lamelles couvre-objet appropriées.
Signaux faibles.	• La préparation des lames est trop ancienne.	• Les lames ne doivent pas dater de plus de deux semaines. Si les lames ne sont pas utilisées pendant cette période, elles doivent être conservées à -20 °C (±5 °C).
	• La dénaturation n'est pas suffisante.	• Le vieillissement, la cuisson ou une fixation supplémentaire peuvent inhiber l'hybridation et ne sont pas recommandés. • Augmenter la température de dénaturation jusqu'à 80 °C ou augmenter la durée de dénaturation jusqu'à 3 min.
	• Un filtre passe-bande multiple est utilisé pour la visualisation.	• Utiliser un filtre passe-bande unique dédié.
Faibles signaux aqua ou verts ou arrière-plan très diffus dans le canal de couleur vert.	• L'intensité du DAPI est trop élevée, ce qui entraîne un cross-talk avec le filtre AQUA ou le filtre VERT.	• Utiliser du DAPI/antifade à faible concentration.
	• Le pH des solutions de lavage est trop faible.	• Veiller à ce que le pH des solutions soit compris entre 7,0 et 7,5. Certains fluorophores verts sont très sensibles à un pH inférieur à 7.
Fond non spécifique élevé.	• Les protéines cytoplasmiques restantes des cellules peuvent nuire à l'hybridation.	• Prétraiter les lames avec de la pepsine.
Si les mesures recommandées ne résolvent pas le problème, ou si votre problème n'est pas répertorié, veuillez contacter MetaSystems Probes.		

Support à la clientèle

Veuillez contacter MetaSystems Probes GmbH (coordonnées ci-dessous).



MetaSystems Probes GmbH
1. Industriestrasse 7
68804 Altlussheim
Allemagne

Tél.: +49 (0)6205 292760
Fax: +49 (0)6205 2927629
Courriel: info@metasystems-probes.com
Site web: www.metasystems-probes.com

MetaSystems Probes décline tout droit de propriété sur les marques et les noms d'autrui.

Pour un résumé de la sécurité et de la performance, visitez le site web <https://ec.europa.eu/tools/eudamed/#/screen/home> ou renseignez-vous à l'adresse info@metasystems-probes.com.

Symboles utilisés

Symbole	Description
	Indique un <i>dispositif médical</i> destiné à être utilisé comme <i>dispositif médical de diagnostic in vitro</i> .
	Marque de conformité qui indique qu'un appareil est conforme aux exigences réglementaires applicables dans l'Union européenne.
	Indique le <i>fabricant du dispositif médical</i> .
	Indique qu'il faut être prudent lors de l'utilisation du dispositif ou de la commande à proximité de l'endroit où le symbole est placé, ou que la situation actuelle nécessite une prise de conscience ou une action de la part de l'opérateur afin d'éviter des conséquences indésirables.
	Indique la nécessité pour l'utilisateur de consulter le <i>mode d'emploi</i> .

Révision du document

Révision	Date d'émission	Indication de changement
FR-CE-IVD-RevA250203-250203v20.2	06.02.2025	Mise à jour de l'IFU conformément au RÈGLEMENT (UE) 2017/746 relatif aux dispositifs médicaux de diagnostic in vitro. La mise à jour n'affecte pas directement les caractéristiques des dispositifs et n'a pas d'impact sur la composition ou les ingrédients de nos produits. Elle n'influence pas non plus la manière dont nos produits sont appliqués, mais déclenche des changements dans les informations fournies avec le produit comme les étiquettes, la destination et les instructions d'utilisation.