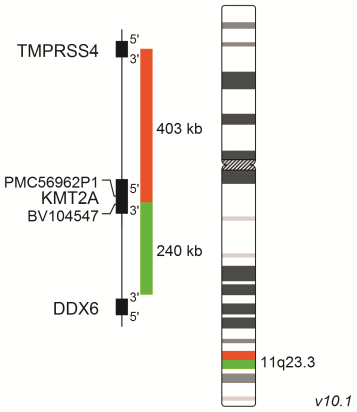
IVD CE 2797	**Használati utasítás** **Csak professzionális használatra**	MetaSystems Probes

További információk és más nyelvek a www.metasystems-probes.com weboldalon találhatók.
e-mail: info@metasystems-probes.com

Termék	Jelölés	Hivatkozási szám	UDI-DI	Csomag mérete
XL KMT2A BA	narancssárga/zöld	D-5090-100-OG	04251315812291	100 µl



Rendeltetés

Az XL KMT2A BA break-apart szonda egy kvalitatív, nem automatizált teszt a 11q23.3-on található *KMT2A* átrendeződések kimutatására fluoreszcens in situ hibridizációval (FISH). A termék diagnosztikai segédeszközként szolgál, és segíti a betegség nyomon követését. A vizsgálati populáció igazolt vagy feltételezett akut limfoblasztos leukémiában (ALL) és akut myeloid leukémiában (AML) szenvedő betegekből áll. A hibridizáció csontvelőből vagy perifériás vérből származó metanol/ecetsav fixált sejteken végzendő.

Termék leírása

Az XL KMT2A BA disszociációs szonda egy a *KMT2A* génrégióhoz (11q23.3) proximálisan hibridizáló és a gén a 24-es intronjáig terjedő narancssárgán jelölt szondából, valamint egy zölddel jelölt szondából, amely disztálisan hibridizál a *KMT2A* génrégiójához a 11q23.3-ban, és a génbe a 20-as intronig terjed, így 3,4 kb-on átfedik egymást (GRCh37/hg19).

Ismert keresztreaktivitás

Nincs ismert kereszthibridizáció.

Mellékelt anyagok

100 µl (10 teszt) XL KMT2A BA szonda, hibridizációs oldatban (> 50 % v/v formamid, < 30 % w/v dextránsulfát és < 2x SSC (sóoldat-nátrium-citrát)) feloldva, használatra készen.

Korlátozások

A FISH által kapott diagnosztikai eredmények elemzését, és azok szakmai beszámolóban történő jelentését a szakmai normáknak és a vonatkozó iránymutatásoknak megfelelően, képzett és tapasztalt személyzetnek kell elvégeznie. A termék nem alkalmazható önálló diagnosztikai eszközként, betegségszűrésre vagy kísérő diagnosztikai eszközként. Az e termékkel folytatott diagnosztikai vizsgálatot ezért mindig más diagnosztikai módszerekkel együtt kell elvégezni. A gyártó protokolljaitól való eltérés befolyásolhatja a vizsgálat robusztusságát és teljesítményét, továbbá félrevezető eredményeket adhat. A szondatérképek a termék rendeltetésének megfelelően készülnek. Az egyszínű sávok nem feltétlenül jelentik azt, hogy a szonda teljesen lefedi a jelzett genomi régiót. Csak a 10 kb-nál nagyobb hézagok vannak feltüntetve. A fentiek tükrében, a nem rendeltetésszerű használat során keletkezett eredmények értelmezésekor különös körültekintés javasolt. További információ kérésre rendelkezésre áll.

A MetaSystems Probes németországi székhelyű IVD-gyártóként és -forgalmazóként követi a hatályos európai és német jogszabályokat, amelyek tiltják a betegekkel kapcsolatos adatok értelmezésére vonatkozó kijelentéseket, valamint a diagnosztikai és terápiás ajánlásokat.

Tárolás és kezelés

A szondákat sötétben, -20 °C-on (±5 °C) kell tárolni. A szondák teljesítménye bizonyítottan nem változik 20 fagyasztási-olvasztási cikluson keresztül. A szondák fényérzékenyek, ezért a kezelés során a fénynek való kitettséget a minimálisra kell korlátozni.

Szállítás

A MetaSystems Probes által gyártott termékek szobahőmérsékleten kerülnek szállításra.

Szükséges, de nem mellékelt berendezések és anyagok

- Vízfürdő, pontos hőmérséklet-szabályozással
- Főzőlap, szilárd lemezzel és pontos hőmérséklet-szabályozással
- 1 µl és 1 ml közötti térfogatú, kalibrált mikro-pipetták
- pH-mérő, kalibrált
- Fagyasztó -20 °C (±5 °C)
- Párásított kamra 37 °C (± 1 °C)
- Fluoreszcens mikroszkóp megfelelő szűrőkkel (lásd alább)
- A mikroszkóp gyártója által ajánlott (fluoreszcenciára alkalmas immerziós olaj)
- Hőmérő
- DAPI/antifade
- Gumicement (ragasztó)
- Mikroszkóp tárgylemezek
- Fedőlemezek: 22 mm x 22 mm és 24 mm x 32 mm
- Kesztyű
- Bordás edények
- Csipeszek
- 20x SSC
- Tween-20
- Desztillált víz
- Mikrocentrifuga
- Időzítő

Fluorokróm specifikáció

Jelölés	Gerjesztési max.	Kibocsátási max.
Zöld	505 nm	530 nm
Narancssárga	552 nm	576 nm

Fluoreszcens mikroszkóp ajánlás

- Fluoreszcens megvilágítás: Megfelelő fémhalogén vagy LED fluoreszcens megvilágító rendszerek vagy hagyományos 100 wattos higanylámpás világítótestek.
- Epi-fluoreszcens megvilágításra alkalmas objektívek.
- Fluoreszcens szűrők: Megfigyeléshez/számoláshoz megfelelő többsávos (multi bandpass) szűrőkészlet, a képek rögzítéséhez vagy az egyes színcsatornák mikroszkópon történő megfigyeléséhez pedig az adott fluorokrómokhoz megfelelő egysávos szűrőkészletek ajánlottak (pl. a MetaSystems-től).

Vizsgálati elv

A fluoreszcens in situ hibridizáció (FISH) olyan reakció mely során fluorofórral kapcsolt nukleotidokat tartalmazó DNS-fragmentumok (DNS-szondák) a sejt komplementer DNS-szekvenciáihoz kapcsolódnak. A szonda és a beteg DNS-e a reakció során egyszerre kerül denaturálásra, így az ezt követő renaturálás során a - sokszoros többletben lévő - szondák a beteg DNS komplementer szekvenciáihoz hibridizálódnak. E kapcsolatok ezután megfelelő fluoreszcens mikroszkópia alkalmazása mellett vizualizálhatók, így tehát indikálják a vizsgált DNS-szekvenciák meglétét/hiányát illetve azok relatív helyzetét.

Minta előkészítése

Általános megjegyzések

A terméket a rendeltetésszerű használatra tervezték.
A metanol/ecetsav fixált sejteket csontvelő aspirátumból vagy perifériás vérből állítják elő. A standard eljárásokkal kapcsolatos további részletek a laboratóriumi kézikönyvekben és kiadványokban találhatók (pl. The AGT Cytogenetics Laboratory Manual, 4. kiadás).

A hibridizált tárgylemezek stabilitása

- A hibridizált FISH tárgylemezek legalább hat hónapig értékelhetők, ha sötétben, -20 °C-on (±5 °C) tárolják azokat.

További folyamatjavaslatok

- Az oldatok, vízfürdők és inkubátorok hőmérsékletének méréséhez mindenképpen kalibrált hőmérő használata ajánlott, mivel ezek a hőmérsékletek kritikusak a termék optimális teljesítménye szempontjából.
- Gondosan ellenőrizze az előmelegített oldatok hőmérsékletét.
- Gondosan ellenőrizze az összes oldat pH-értékét, melyeknek szobahőmérsékleten 7,0-7,5 között kell lenniük.
- A pufferek koncentrációja, a pH és a hőmérséklet alapvető fontosságú tényezők a hibridizációs körülmények ún. szigorúságának (stringency) meghatározásában. Alacsony szigorúság a szonda nem specifikus kötődéséhez, a túl magas szigor pedig a jel intenzitásának csökkenéséhez vagy a jelek eltűnéséhez vezethet.
- Felnyitás előtt röviden centrifugálja le a csövet, hogy a szonda a cső alján összegyűljön

FISH protokoll a MetaSystems DNS-próbákhoz

Lemez előkészítése

1. Cseppentse a sejtszuszpenziót a tárgylemezre. Hagyja megszáradni a levegőn. Ha a tárgylemezeket a következő napokban nem használjuk fel, tároljuk -20 °C-on (±5 °C).
2. Vigyen fel 10 µl szondát.
3. Fedje le 22 mm x 22 mm-es fedőlappal.
4. Zárja le gumicementtel.

Denaturáció

1. Denaturálja a mintát és a szondát egyidejűleg úgy, hogy a melegítőlapon 75 °C-on (± 1 °C) 2 percig melegíti a tárgylemezt.

Hibridizáció

1. Inkubálja egy éjszakán át 37 °C-on (±1 °C) párásított kamrában.

Hibridizálás utáni mosások

Szükséges oldatok

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

Eljárás

1. Óvatosan távolítsa el a fedőlapot és a ragasztó minden nyomát.
2. Mossa a tárgylemezt 0,4x SSC-ben (pH 7,0) 72 °C-on (±1 °C) 2 percig.
3. Csöpögtesse le a tárgylemezt, és mossa 2x SSC, 0,05 % Tween-20 (pH 7,0) oldatban szobahőmérsékleten 30 másodpercig.
4. A kristályképződés elkerülése érdekében rövid ideig öblítse le desztillált vízzel, és hagyja levegőn megszáradni.

Hátterfestés

Szükséges oldatok:

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

Eljárás:

1. Vigyen fel 10 µl DAPI/antifade-t, és fedje le egy 24 mm x 32 mm-es fedőlemezzel.
2. Hagyja a DAPI/antifade penetrációját 10 percig.
3. Folytassa a mikroszkópiával és az értékeléssel.
4. A tárgylemezeket -20 °C-on (±5 °C) kell tárolni.

Várható eredmények

Csak a leggyakoribb jelkonstellációkat mutatjuk be, azonban más releváns jelminták is megfigyelhetők.

Normál sejt:
Két zöld-narancssárga színű kolokalizációs/fúziós jel (2GO).



Aberráns sejt (tipikus eredmény):
Egy zöld-narancssárga kolokalizációs/fúziós jel (1GO) és egy-egy különálló zöld (1G) és narancssárga (1O) jel, amelyek az adott lokusz kromoszómatöréséből származnak. Azoknál a transzlokációknál, melyeknél a törés a *KMT2A* törésponti region belül történik, a narancssárga jel egy kis része a zöld jellel kolokalizálódva marad. A reziduális narancssárga szignál lényegesen kissebb mint a disszociálódó narancssárga jel, s így csak nehez vagy akár egyáltalán nem detektálható.



Aberráns sejt (tipikus eredmény):
Két zöld-narancssárga kolokalizációs/fúziós jel (2GO) és egy különálló, általában kis narancssárga (1O) jel, amely az adott genomiális régiónak egy ismeretlen kromoszómára történő beillesztését jelzi.



Analitikai teljesítmény

Az analitikai teljesítményre vonatkozó adatok gyűjtése PHA-stimulált limfocita-kultúrákból származó interfázisú sejtmagok felhasználásával, nemzetközi citogenetikai szabványoknak megfelelően történt. Az eredmények egyenértékűségét a nem stimulált csontvelőkultúrák és a PHA-stimulált limfociták között összehasonlító vizsgálat biztosította.

Analitikai specificitás

A specificitást a helyesen detektált célstruktúrák százalékos arányaként számítják ki az összes detektált célstruktúrához viszonyítva.

A számított analitikai specificitás 100 %, 5 különböző kariotípusosan normális férfitól származó 20 metafázis értékelése alapján.

Analitikai szenzitivitás

Az analitikai szenzitivitás az interfázisú sejtmagok százalékos arányaként került kiszámolásra: mely magok mutatják a várt normális jelmintázatot az összes elemzett interfázisú sejtmaghoz viszonyítva. Az adatok gyűjtéséhez 10 kariotípusosan normális egyéntől származó egyenként 400 sejtmag jelmintázata került elemzésre.

Az átlagtól való eltérés mértékét a relatív szórás (% RSD) mutatja.

Mintázat	Érzékenység	% RSD
2GO (normál)	99.8 %	0.3 %

Cut-Off

A kvalitatív tesztek határértéke az a küszöbérték, amely felett az eredmény pozitívnak, alatta pedig negatívnak tekinthető.

A cut-off érték meghatározása 10 kariotípusosan normális egyed interfázisú sejtmagjain végzett szondahibridizáció alapján történt. A cut-off értékek egyedenként 400 sejtmagon alapulnak.

Mintázat	Cut-Off
1GO 1G 1O	1.6 %

A cut-off értékek tájékoztató jellegűek, mert azokat számos, a laboratóriummal kapcsolatos paraméter befolyásolhatja. Diagnosztikai felhasználás céljából a határértékeket ezért minden egyes laboratóriumnak egyedileg kell meghatároznia.

Precizitás (reprodukálhatóság/megismételhetőség)

A reprodukálhatóság a különböző körülmények (nap, gyártási tételszám és minta) között végzett analitikai érzékenységi vizsgálatok eredményei közötti egyezés mértéke. Minden körülményhez három elemzést végeztünk, egyenként 100 sejtmag elemzésével.

A reprodukálhatóság az átlagtól való eltérés mértékeként a relatív szórással (% RSD) került definiálásra.

Feltételek	Reprodukálhatóság % RSD
Napról-Napra ugyanaz a tétel és ugyanaz a személy három napon keresztül	0.6 %
Lot-to-Lot ugyanaz a személy és ugyanaz a nap három tétellel (Lottal)	1.0 %
Mintáról Mintára ugyanazon a napon és ugyanazon a tételen, három egyeddel	0.6 %

A megismételhetőség az azonos körülmények között végzett vizsgálatok közötti egyezés mértéke. Külön ismételhetőségi vizsgálatokat nem végeztünk, mivel a különböző körülmények között végzett reprodukálhatósági vizsgálatokban az átlagtól való eltérés mértékét ≤5 %-os relatív szórással (% RSD) határoztuk meg. Ezért az átlagtól való eltérés mértékét azonos feltételek mellett ≤5 %-os relatív standard eltéréssel (% RSD) állapítottuk meg.

Klinikai teljesítmény

Megjelent irodalom

A termék rendeltetésszerű használatára vonatkozó klinikai teljesítményre vonatkozó állításokat a termékre és az általa vizsgált állapotra vonatkozó tudományos szakirodalom támasztja alá.

- 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

Rutin diagnosztikai vizsgálatokkal szerzett, közzétett tapasztalatok

A rutin diagnosztikai vizsgálatokból származó adatok európai diagnosztikai laboratóriumoktól származnak, és a MetaSystems Probes weboldalán kerültek közzétételre (lásd a vonatkozó teljesítményadatlapot az adott termék megfelelő letöltési szekciójában). A célmarker jelenléte pozitív esetekben, illetve annak hiánya negatív esetekben referencia-technológiákkal (kromoszómasáv-elemzés) került igazolásra. A vizsgálati kohorszba igazolt vagy feltételezett ALL, AML, CMML, MDS, MPN és NHL betegek tartoznak. A mintákat csontvelőből és perifériás vérből nyerték.

Átrendeződés	Esetek száma	Diagnosztikai szenzitivitás	Diagnosztikai specificitás
KMT2A átrendeződések a 11q23.3-ban	1538	100 %	100 %

A klinikai teljesítményre vonatkozó adatok egyéb forrásai

Az IVDD részeként gyűjtött és a klinikai teljesítményadatok egyéb forrásaként besorolt diagnosztikai validációs adatok értékelése azt mutatja, hogy az XL KMT2A BA mind a 16 elemzett aberráns esetet helyesen azonosította.

Minőségellenőrzési eljárás

A termék első, diagnosztikai célú használata előtt ellenőrizni kell, hogy a termék az elvárásoknak megfelelően működik-e. Figyelembe kell venni az új FISH-tesztek diagnosztikában történő bevezetésére vonatkozó útmutatásokat és ajánlásokat (pl. CLSI Fluorescence In Situ Hybridization Methods for Clinical Laboratories; Approved Guideline - Second Edition).

Biztonsági utasítások

A MetaSystems Probes által gyártott szondák kizárólag professzionális használatra készültek, és csak képzett személyzet használhatja őket. A biztonságos működés és a reprodukálható eredmények biztosítása érdekében kérjük, vegye figyelembe az alábbi biztonsági közleményeket és figyelmeztető táblákat.

	**VESZÉLYES**
Tartalmazza:	Formamid
Veszélyre utaló nyilatkozatok:	H360FD Károsíthatja a termékenységet. Károsíthatja a magzatot. H351 Feltételezhetően rákkeltő. H373 Hosszan tartó vagy ismételt expozíció esetén szervi károsodást okozhat.
Óvatossági nyilatkozatok:	P201 Használat előtt kérje be a speciális utasításokat. P260 Ne lélegezze be a port/füstöt/gázt/ködöt/ gőzt/permetet. P280 Viseljen védőkesztyűt/védő ruházatot. P308+ P313 HA kitett vagy érintett: Kérjen orvosi tanácsot/ellátást. P501 A tartalmat/konténert a helyi/regionális/ nemzeti/nemzetközi előírásoknak megfelelően kell ártalmatlanítani.
Különleges címkézés:	Profi felhasználókra korlátozva.
	**VIGYÁZAT: Forró vízfürdő és forró lemezek!** A denaturáláshoz és a hibridizációhoz forró vízfürdőket és forró lemezeket használnak, amelyek hőmérséklete > 37°C. Vigyázzon, hogy ne kerüljön közvetlen kapcsolatba forró felületekkel vagy folyadékokkal. Viseljen kesztyűt és laboratóriumi köpenyt. Bőrrel való érintkezés esetén az érintett területet azonnal hideg vízzel hűtse le.
	**FIGYELEM: Helyes laboratóriumi gyakorlat!** A helyes laboratóriumi gyakorlat elveivel összhangban kell használni.

Nemkívánatos események jelentése

Az eszközzel kapcsolatban bekövetkezett minden súlyos eseményt jelenteni kell a gyártónak és annak a tagállamnak az illetékes hatóságának, abban a tagállamban, ahol a felhasználó és/vagy a beteg letelepedett.

Hibaelhárítás

Probléma	Lehetséges ok(ok)	Ajánlott megoldás
A mikroszkópban nem észlel FISH jeleket.	• Visszavert fény retesz / stop csúszka a fényútban.	• Nyissa ki a reteszt / mozgassa ki a fény útjából a stop csúszkát.
	• A fényforrás ki van kapcsolva.	• Kapcsolja be a fényforrást.
	• Rossz fluoreszcens szűrő van a fényútban.	• Helyezze a megfelelő szűrőt a fény útjába.
	• Az objektív nincs a helyén.	• Forgassa az objektívet a fény útjába.
	• A fotócső a kamera pozíciójában van.	• Közvetlen fényút az okulárokhoz.
A hibridizációs jelek egy idő után gyengülnek.	• Az immerziós olaj behatolt az üveglemez és a fedőüveg közé.	• Cserélje ki a fedőlemezt és a DAPI/antifade-ot. Használjon 24 mm x 32 mm-es fedőlapot, még akkor is, ha csak egy kis területet hibridizál.
Diffúz jelek.	• A minta nincs megfelelően megvilágítva.	• Ellenőrizze a mikroszkóp optikai útvonalát. Állítsa be megfelelően az UV-fényt. Ellenőrizze az UV-lámpa élettartamát.
	• A fókuszsík nem állítható megfelelően.	• Használjon elegendő immerziósolajat. Ne keverje össze a különböző immerziós olajokat. Használjon fluoreszcenciára alkalmas immerziós olajat. • A fakulásgátló réteg túl vastag a fókuszáláshoz. Ne használjon túl sok DAPI/antifade réteget. Tárgylemezenként 10 µl (24 mm x 32 mm fedőlemez) elegendő. • Használjon megfelelő fedőlapokat.
Gyenge jelek.	• A minta túl régi.	• A minták nem lehetnek két hétnél régebbiek. Ha a tárgylemezeket ezen időszakon belül nem használják fel, tárolja -20 °C-on (±5 °C).
	• A denaturálás nem megfelelő.	• Az öregítés, sütés vagy további fixálás gátolhatja a hibridizációt, ezért nem ajánlott. • Növelje a denaturálási hőmérsékletet 80 °C-ra, vagy növelje a denaturálási időt 3 percre.
	• A megtekintéshez többsávos szűrőt használnak.	• Használjon dedikált egysávos szűrőt.
Gyenge aqua vagy zöld jelek vagy magas diffúz háttér zöld színcsatornában.	• A DAPI intenzitása túl magas, ami az AQUA szűrő vagy a ZÖLD szűrő átfedését eredményezi.	• Használjon alacsony koncentrációjú DAPI/antifade-ot.
	• A mosóoldatok pH-értéke túl alacsony.	• Győződjön meg arról, hogy az oldatok pH-értéke 7,0 és 7,5 között van. Néhány zöld fluorofór nagyon érzékeny a 7 alatti pH-értékre.
Magas nem specifikus háttér.	• A sejtek maradék citoplazmatikus fehérjéi ronthatják a hibridizáció minőségét.	• Előkezelje a tárgylemezeket pepszinnel.
Ha az ajánlott intézkedések nem oldják meg a problémát, vagy a probléma nem szerepel a listában, kérjük, vegye fel a kapcsolatot a MetaSystems Probes-val.		

Ügyfélszolgálat

Kérjük, lépjen kapcsolatba a MetaSystems Probes GmbH-val (elérhetőségek lásd alább) vagy az Ön országában működő hivatalos forgalmazónkkal.

MetaSystems Probes GmbH
1. Industriestrasse 7
68804 Altlussheim
Németország

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

A MetaSystems Probes kizárja a mások védjegyeihez és neveihez fűződő tulajdonosi érdekeket.

A biztonság és teljesítmény összefoglalója a https://ec.europa.eu/tools/eudamed/#/screen/home weboldalon található, vagy érdeklődjön a info@metasystems-probes.com címen.

Használt szimbólumok

Szimbólum	Leírás
IVD	Olyan *orvostechnikai eszközt* jelöl, amelyet in vitro diagnosztikai *orvostechnikai eszközként* kívánnak használni.
CE	Megfelelőségi jelölés, amely azt jelzi, hogy egy eszköz megfelel az Európai Unióban alkalmazandó szabályozási követelményeknek.
	Az *orvostechnikai eszköz gyártóját* jelzi.
	Azt jelzi, hogy a *szimbólum* elhelyezésének közelében lévő eszköz vagy kezelőszerv működtetésekor óvatosságra van szükség, vagy hogy az aktuális helyzet a kezelő figyelmét vagy intézkedését igényli a nemkívánatos következmények elkerülése érdekében.
	Jelzi, hogy a felhasználónak meg kell néznie a *használati utasítást*.

A dokumentum felülvizsgálata

Felülvizsgálat	Kibocsátás dátuma	Változásra utaló jelzések
HU-CE-IVD-RevB261117-260724v10.1	25.11.2026	Az in vitro diagnosztikai orvostechnikai eszközökről szóló (EU) 2017/746 RENDELET szerint frissített IFU. A frissítés nem érinti közvetlenül az eszköz jellemzőit, és nincs hatással termékeink összetételére vagy összetevőire. Nem befolyásolja termékeink alkalmazási módját sem, de változásokat idéz elő a termékkel együtt a címkék, a rendeltetés és a használati utasítás formájában nyújtott információkban.