IVD CE 2797

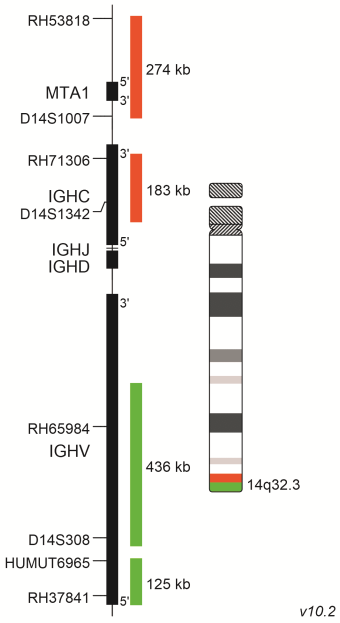
Használati utasítás

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 IGH BA	zöld/narancssárga	D-5107-100-OG	04251315812437	100 µl



Rendeltetés

Az XL IGH BA disszociációs szonda egy kvalitatív, nem automatizált teszt az *IGH*-átrendeződések (14q32.3) 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), krónikus limfocitás leukémiában (CLL), myeloma multiplexben (MM) és non-Hodgkin-lymphomában (NHL) szenvedő betegekből áll. A hibridizáció ALL és CLL esetén csontvelőből vagy perifériás vérből származó metanol/ecetsav fixált sejteken, MM esetén metanol/ecetsav fixált plazmasejteken, NHL esetén érintett nyirokcsomóból, érintett csontvelőből vagy más érintett szövetből származó metanol/ecetsav fixált sejteken végzendő.

Termék leírása

Az XL IGH BA disszociációs szonda egy az *IGH*-lókusz konstans regióját részben lefedő (14q32.3) narancssárgán jelölt szondából, valamint egy az *IGH*-lókusz disztális variabilis régiójához (14q32.3) hibridizáló zöld színű szondából áll.

Ismert keresztreaktivitás

Halvány zöld kereszthibridizáció figyelhető meg a 15q11.2 és a 16p11.2-nél az *IGH* pszeudogének miatt.

Mellékelt anyagok

100 µl (10 teszt) XL IGH 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 csontvelőaspirátumokból, perifériás vérből vagy az érintett nyirokcsomókból a csomószövet gondos feldarabolása után felszabaduló egyes sejtekből kerülnek előállításra. Myeloma multiplex esetén ajánlott a CD138+ plazmasejtek dúsítása (pl. mágneses sejtválogatás) vagy in situ azonosításuk megfelelő fluoreszcens jelölésű antitesttel (clg-FISH).
A standard eljárásokkal kapcsolatos további részletek a laboratóriumi kézikönyvekben és kiadványokban találhatók (pl. The AGT Cytogenetics Laboratory Manual, 4. kiadás, a limfómákra vonatkozóan lásd még Campbell et al (2015) Pathology 37:493-507 és Ross (2004) Curr Diagn Pathol 10:345-350, a CD138+ sejtek dúsítására vonatkozóan lásd még Cumova et al (2010) Int J Hematol 92:314-319 és a clg-FISH-re vonatkozóan lásd még Gole et al (2012) Blood 120:4792).

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), egy-egy különálló zöld (1G) és narancssárga (1O) jel, amelyek az adott lokusz kromoszómatöréséből származnak



Aberráns sejt (tipikus eredmény):
Egy zöld-narancssárga kolokalizációs/fúziós jel (1GO), amely egy zöld és egy narancssárga jel elvesztéséből származik.



Aberráns sejt (tipikus eredmény):
Egy zöld-narancssárga (1GO) kolokalizációs/fúziós jel és egy zöld (1G) jel, amely mintázat egy narancssárga jel elvesztéséből következik.



Aberráns sejt (tipikus eredmény):
Egy zöld-narancssárga (1GO) kolokalizációs/fúziós jel és egy narancssárga (1O) jel, amely egy zöld jel elvesztésének következménye.



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)	96.0 %	1.1 %

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	3.6 %
1GO	6.6 %
1GO 1G	2.6 %
1GO 1O	2.3 %

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 tétel-szám 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	1.6 %
Lot-to-Lot ugyanaz a személy és ugyanaz a nap három tétellel (Lottal)	1.2 %
Mintáról Mintára ugyanazon a napon és ugyanazon a tételen, három egyeddel	2.1 %

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

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 szakaszában). A célmarker jelenléte pozitív esetekben, illetve annak hiánya negatív esetekben referencia-technológiákkal (komplementer FISH-szonda) került igazolásra. A vizsgálati kohorszba igazolt vagy feltételezett ALL, CLL és NHL betegek tartoznak. A mintákat csontvelőből és perifériás vérből nyerték.

Átrendeződés	Esetek száma	Diagnosztikai szenzitivitás	Diagnosztikai specificitás
IGH-átrendeződések (14q32.3)	469	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 IGH BA mind a 10 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-RevB261117-260724v10.2	20.11.2026	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.