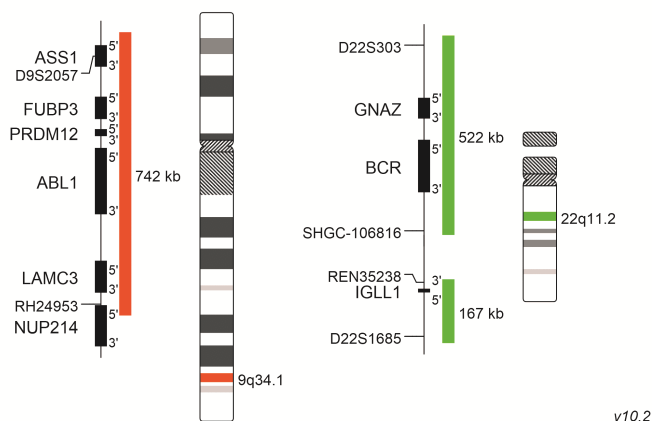




Ulteriori informazioni e altre lingue sono disponibili su [www.metasystems-probes.com](http://www.metasystems-probes.com)  
e-mail: [info@metasystems-probes.com](mailto:info@metasystems-probes.com)

Prodotto	Marcatura	Numero di riferimento	UDI-DI	Confezionamento
XL BCR/ABL1 plus	verde/arancione	D-5052-100-OG	04251315812093	100 µl



## Destinazione d'uso

La sonda XL BCR/ABL1 plus a doppia fusione è un test qualitativo, non automatizzato, per il rilevamento di riarrangiamenti *BCR::ABL1*, t(9;22)(q34.1;q11.2) mediante ibridazione in situ a fluorescenza (FISH). Il prodotto è destinato ad essere un ausilio diagnostico e a contribuire al monitoraggio della malattia. La popolazione del test è costituita da pazienti con leucemia linfoblastica acuta (ALL), leucemia mieloide acuta (AML) e leucemia mieloide cronica e neoplasie mieloproliferative (CML/MPN) confermate o sospette. L'ibridazione deve essere eseguita su cellule fissate con metanolo/acido acetico derivate da midollo osseo o sangue periferico.

## Descrizione del prodotto

La sonda XL BCR/ABL1 plus a doppia fusione consiste in una sonda marcata in arancione che ibridizza con la regione del gene *ABL1* in 9q34.1 e in una sonda marcata in verde che ibridizza con la regione del gene *BCR* in 22q11.2.

## Cross-reattività nota

Non sono note ibridazioni incrociate.

## Materiali forniti

100 µl (10 test) di XL BCR/ABL1 plus, la sonda è disciolta in soluzione di ibridazione (> 50 % v/v formamide, < 30 % w/v destrano solfato e < 2x SSC (salina-sodio citrato)) e pronta all'uso.

## Limitazioni

L'analisi, l'interpretazione dei dati e la refertazione dei risultati diagnostici ottenuti con la FISH devono essere eseguiti in conformità alle norme professionali e alle linee guida pertinenti da personale qualificato ed esperto. Il prodotto non è destinato all'uso come diagnostico autonomo, per lo screening delle malattie o come diagnostico di accompagnamento. Un'indagine diagnostica ottenuta con questo prodotto è quindi sempre effettuata in combinazione con altri metodi diagnostici. Eventuali deviazioni dai protocolli del produttore possono influire sulla robustezza e sulle prestazioni del test e possono dare luogo a risultati fuorvianti. Le mappe delle sonde sono state create in base alla destinazione d'uso del prodotto. Le barre colorate non significano necessariamente che la sonda copra completamente la regione genomica indicata. Sono mostrate solo le interruzioni superiori a 10 kb. Pertanto, si raccomanda cautela nell'interpretare i risultati generati dall'uso off-label. Ulteriori informazioni sono disponibili su richiesta.

In qualità di produttore e distributore di IVD con sede in Germania, MetaSystems Probes segue le attuali normative europee e tedesche, che vietano qualsiasi dichiarazione relativa all'interpretazione dei dati relativi al paziente, nonché le raccomandazioni diagnostiche e terapeutiche, rispettivamente.

## Conservazione e manipolazione

Le sonde devono essere conservate al buio a -20 °C (±5 °C). È stato dimostrato che le prestazioni della sonda sono inalterate fino a 20 cicli di congelamento e scongelamento. Le sonde sono sensibili alla luce, pertanto l'esposizione alla luce deve essere limitata al minimo durante la manipolazione.

## Spedizione

I prodotti di MetaSystems Probes vengono spediti a temperatura ambiente.

## Attrezzature e materiali necessari ma non forniti

- Bagno d'acqua con controllo accurato della temperatura
- Piastra calda, con piastra solida e controllo accurato della temperatura
- Micropipette con volumi compresi tra 1 µl e 1 ml, calibrate
- Misuratore di pH, calibrato
- Congelatore -20 °C (±5 °C)
- Camera umidificata 37 °C (± 1 °C)
- Microscopio a fluorescenza con filtri adatti (vedi sotto)
- Olio per immersione, raccomandato dal produttore del microscopio (specifico per la fluorescenza)
- Termometro
- DAPI/antifade
- Rubber cement
- Vetrini porta-oggetto
- Vetrini copri-oggetto (in vetro):
  - 22 mm x 22 mm e
  - 24 mm x 32 mm
- Guanti
- Giare Coplin
- Pinze
- 20x SSC
- Tween-20
- Acqua distillata
- Microcentrifuga
- Timer

## Caratteristiche dei fluorocromi

Marchatura	Eccitazione max.	Emissione max.
Verde	505 nm	530 nm
Arancione	552 nm	576 nm

## Raccomandazione per il microscopio a fluorescenza

- Illuminazione a fluorescenza: Sistemi di illuminazione a fluorescenza a ioduri metallici, o sistemi di illuminazione LED, o illuminatori convenzionali con lampada ai vapori di mercurio da 100 watt.
- Obiettivi adatti all'illuminazione epi-fluorescente.
- Filtri di fluorescenza: Per la visualizzazione/conteggio, utilizzare un set di filtri multibanda appropriato. Per l'acquisizione di immagini o l'osservazione di singoli canali di colore al microscopio, utilizzare set di filtri passabanda singoli adatti per i rispettivi fluorocromi (ad esempio, quelli forniti da MetaSystems).

## Principio del test

L'ibridazione in situ a fluorescenza (FISH) utilizza frammenti di DNA in cui sono incorporati nucleotidi accoppiati a fluorofori per rilevare sequenze di DNA complementari in cellule fissate al microscopio a fluorescenza. Il DNA delle sonde selezionate e il DNA del paziente vengono denaturati, cioè i due filamenti di DNA della doppia elica vengono separati. Durante la successiva rinaturazione, le sonde di DNA si ibridano con le sequenze complementari del DNA del paziente.

## Preparazione del campione

### Commenti generali

Il prodotto è stato progettato per essere utilizzato come specificato nella destinazione d'uso.

Non tutti i metodi di preparazione indicati devono essere rilevanti per il prodotto. Le sospensioni cellulari sono preparate da colture a breve termine non stimolate di aspirati di midollo osseo, sangue intero o singole cellule rilasciate da linfonodi coinvolti dopo un'attenta triturazione del tessuto nodale. Per il mieloma multiplo si raccomanda di arricchire le plasmacellule CD138+ (ad esempio, mediante selezione magnetica delle cellule) o di identificarle in situ con un appropriato anticorpo marcato con fluorescenza (clg-FISH). La preparazione delle cellule viene solitamente trattata secondo i protocolli dedicati all'analisi citogenetica, tra cui l'arresto mitotico, il trattamento ipotonico e la fissazione con acido metanolo-acetico. Le sospensioni cellulari così fissate vengono lasciate cadere su vetrini puliti prima dell'ibridazione. I campioni devono essere preparati secondo gli standard delle procedure citogenetiche (ad esempio, The AGT Cytogenetics Laboratory Manual, 4th Edition, per il linfoma si veda anche Campbell et al (2015) Pathology 37:493-507 e Ross (2004) Curr Diagn Pathol 10:345-350, per l'arricchimento delle cellule CD138+ si veda anche Cumova et al (2010) Int J Hematol 92:314-319 e per la clg-FISH si veda anche Gole et al (2012) Blood 120:4792).

### Stabilità dei vetrini ibridati

- I vetrini FISH ibridati possono essere analizzati per almeno sei mesi se conservati al buio a -20 °C (±5 °C).

### Raccomandazioni aggiuntive sul processo

- L'uso di un termometro calibrato è fortemente raccomandato per misurare le temperature delle soluzioni, dei bagni d'acqua e degli incubatori, poiché queste temperature sono fondamentali per le prestazioni ottimali del prodotto.

- Controllare attentamente la temperatura delle soluzioni preriscaldate.
- Controllare attentamente il valore del pH di tutte le soluzioni. Deve essere compreso tra 7,0 e 7,5 a temperatura ambiente.
- Le concentrazioni dei tamponi (stringenza), il pH e la temperatura sono importanti perché una bassa stringenza può portare a un legame non specifico della sonda e una stringenza troppo alta può portare a una riduzione dell'intensità del segnale o alla sua scomparsa.
- Prima dell'apertura: centrifugare brevemente per raccogliere la sonda sul fondo della provetta.

## Protocollo FISH per le sonde DNA di MetaSystems

### Preparazione dei vetrini

- Lasciare cadere il campione di cellule sul vetrino del microscopio. Lasciare asciugare all'aria. Se i vetrini non vengono utilizzati nei giorni successivi, conservarli a -20 °C (±5 °C).
- Applicare 10 µl di sonda.
- Coprire con coprioggetto 22 mm x 22 mm.
- Sigillare con rubber cement.

### Denaturazione

Denaturare contemporaneamente il campione e la sonda riscaldando il vetrino su una piastra a 75 °C (±1 °C) per 2 minuti

### Ibridazione

- Incubare in una camera umidificata a 37 °C (±1 °C) per tutta la notte.

### Lavaggi post-ibridazione

#### Soluzioni richieste

- 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

#### Procedura

- Rimuovere con cura il copri-oggetto e tutte le tracce di colla.
- Lavare il vetrino in 0,4x SSC (pH 7,0) a 72 °C (±1 °C) per 2 minuti.
- Scolare il vetrino e lavarlo in 2x SSC, 0,05 % Tween-20 (pH 7,0) a temperatura ambiente per 30 secondi.
- Sciappare brevemente in acqua distillata per evitare la formazione di cristalli e lasciare asciugare all'aria.

### Controcolorazione

#### Soluzioni necessarie:

- DAPI/antifade (ad esempio, MetaSystems Probes DAPI/antifade, D-0902-500-DA)

#### Procedura:

- Applicare 10 µl di DAPI/antifade e sovrapporre un vetrino copri-oggetto di 24 mm x 32 mm.
- Lasciare penetrare la DAPI/antifade per 10 minuti.
- Procedere all'analisi al microscopio.
- Conservare i vetrini a -20 °C (±5 °C).

## Risultati attesi

Vengono mostrati solo i pattern di segnali più frequenti; è possibile osservare altri rilevanti pattern di segnali.

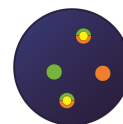
### Cellula normale:

Due segnali verdi (2G) e due arancioni (2O).



### Cellula aberrante (risultati tipici):

Un segnale verde (1G), uno arancione (1O) e due segnali di colocalizzazione/fusione verde-arancione (2GO) derivanti da una traslocazione reciproca tra i rispettivi loci.



## Prestazioni analitiche

I dati sulle prestazioni analitiche sono stati raccolti utilizzando nuclei in interfase provenienti da colture di linfociti stimolati con PHA. La raccolta delle cellule è stata eseguita secondo gli standard citogenetici. L'equivalenza dei risultati tra colture di midollo osseo non stimolate e linfociti stimolati con PHA è stata garantita da uno studio comparativo.

### Specificità analitica

La specificità è calcolata come la percentuale di target corretti rilevati sul numero totale di target rilevati.

La specificità analitica calcolata è del 100% dopo 20 metafasi valutate da 5 diversi individui maschi cariotipicamente normali.

### Sensibilità analitica

La sensibilità analitica è calcolata come la percentuale di nuclei in interfase che presentano il pattern di segnale normale atteso sul numero totale di nuclei in interfase analizzati. Sono stati analizzati i segnali di 400 nuclei di 10 individui cariotipicamente normali.

Il grado di deviazione dalla media è rappresentato dalla deviazione standard relativa (% DSR).

Pattern	Sensibilità	% DSR
2G 2O (normale)	95.7 %	1.5 %

### Cut-Off

Il cut-off per un test qualitativo è la soglia al di sopra della quale il risultato è considerato positivo e al di sotto della quale il risultato è considerato negativo.

Il valore di cut-off è stato calcolato sulla base di ibridazioni di sonde su nuclei in interfase di 10 individui cariotipicamente normali. I valori di cut-off si basano su 400 nuclei ciascuno.

Pattern	Cut-Off
2GO 1G 1O	1.2 %

Il valore di cut-off è informativo e dipende da diversi parametri legati al laboratorio. Pertanto, per l'uso diagnostico, i valori di cut-off devono essere determinati individualmente da ciascun laboratorio.

### Precisione (riproducibilità/ripetibilità)

La riproduzione è il grado di accordo tra i risultati degli studi di sensibilità analitica condotti in condizioni diverse (giorno, lotto e campione). Per ogni condizione sono state eseguite tre analisi con 100 nuclei ciascuna.

La riproduzione è data dal grado di deviazione dalla media attraverso la deviazione standard relativa (% DSR).

Le condizioni	Riproducibilità % DSR
Giorno per giorno stesso lotto e stesso individuo in tre giorni	0.6 %
Da lotto a lotto stesso individuo e stesso giorno con tre lotti	1.6 %
Da campione a campione stesso lotto e giorno con tre individui	2.8 %

La ripetibilità è il grado di accordo tra studi condotti nelle stesse condizioni. Non sono stati eseguiti studi di ripetibilità separati poiché il grado di deviazione dalla media negli studi di riproduzione in condizioni diverse è stato determinato con  $\leq 5$  % di deviazione standard relativa (% DSR). Pertanto, è stato concluso un grado di deviazione dalla media in condizioni uguali con  $\leq 5$  % di deviazione standard relativa (% DSR).

## Prestazioni cliniche

### Letteratura pubblicata

Le indicazioni sulle prestazioni cliniche del prodotto rispetto allo scopo previsto sono state supportate dalla letteratura scientifica relativa al prodotto e alla condizione analizzata con il prodotto.

- Culen et al (2016) Oncotarget 7:33016-33024
- Ashok et al (2017) Asian Pac J Cancer Prev 18:3457-3464
- Trojani et al (2017) Cancer Biomark 21:41-53
- Trojani et al (2019) PLoS One 14:e0218444
- Balducci et al (2020) Leuk Lymphoma 61:209-212
- Shoumariyeh et al (2020) Br J Haematol 190:e339-e343
- El Ashry et al (2021) Int J Lab Hematol 43:235-243

### Esperienza pubblicata acquisita con i test diagnostici di routine

I dati dei test diagnostici di routine sono stati ottenuti da laboratori diagnostici europei e pubblicati sul sito web di MetaSystems Probes (si veda la rispettiva scheda di prestazione nella sezione download corrispondente a questo prodotto specifico). La presenza del marcatore target nei casi positivi e l'assenza nei casi negativi rilevati dalla FISH è stata confermata da tecnologie di riferimento (analisi del bandeggio cromosomico e PCR a trascrizione inversa). La coorte del test comprende pazienti con ALL, AML, CML/MPN, MDS e HES confermati o sospetti. I campioni sono stati ottenuti da midollo osseo e sangue periferico.

Riarrangiamento	Numero di casi	Sensibilità diagnostica	Specificità diagnostica
Riarrangiamenti <i>BCR::ABL1, t(9;22)</i> (q34.1;q11.2)	14134	99.3* %	100 %

\*31 dei 14134 casi analizzati hanno mostrato un risultato FISH negativo ma l'analisi del bandeggio cromosomico ha rivelato una *t(9;22)(q34;q11)*. Questi casi sono stati classificati come falsi negativi per la FISH. Per 21 di questi casi erano disponibili i risultati della RT-PCR, che dimostravano che il numero di cellule positive era inferiore al limite di rilevazione per la FISH.

### Altre fonti di dati sulle prestazioni cliniche




La valutazione dei dati di convalida diagnostica raccolti nell'ambito dell'IVDD e classificati come altre fonti di dati sulle prestazioni cliniche mostra che XL BCR/ABL1 plus ha identificato correttamente tutti 14 aberranti analizzati.

### Procedura di controllo qualità

Prima dell'uso iniziale di questo prodotto in diagnostica, è necessario verificare che le sue prestazioni siano quelle previste. È necessario tenere conto delle linee guida e delle raccomandazioni per l'implementazione di nuovi test FISH nella diagnostica (ad esempio, CLSI Fluorescence In Situ Hybridization Methods for Clinical Laboratories; Approved Guideline - Second Edition).

## Istruzioni di sicurezza

Tutte le sonde prodotte da MetaSystems Probes sono destinate esclusivamente all'uso professionale e devono essere utilizzate da personale qualificato e addestrato. Per garantire un funzionamento sicuro e risultati riproducibili, osservare le avvertenze di sicurezza e i segnali di attenzione riportati di seguito.

	<b>PERICOLO</b>
Contiene::	Formamide
Indicazioni di pericolo:	H360FD Può nuocere alla fertilità. Può danneggiare il bambino non ancora nato. H351 Sospettato di provocare il cancro. H373 Può provocare danni agli organi in caso di esposizione prolungata o ripetuta.
Consigli di prudenza:	P201 Ottenere istruzioni speciali prima dell'uso. P260 Non respirare polvere/fumi/gas/nebbia/vapori/spray. P280 Indossare guanti/indumenti protettivi. P308+ P313 SE esposti o preoccupati: Consultare un medico. P501 Smaltire il contenuto/il contenitore in conformità alle normative locali/regionali/nazionali/internazionali.
Etichettatura speciale:	Riservato agli utenti professionali.
	<b>ATTENZIONE: bagno in acqua calda e piastre calde!</b> Per la denaturazione e l'ibridazione si usano bagni d'acqua calda e piastre calde con temperature di >37°C. Fare attenzione a non entrare in contatto diretto con superfici o liquidi caldi. Indossare guanti e camice da laboratorio. In caso di contatto con la pelle, raffreddare immediatamente con acqua fredda.
	<b>ATTENZIONE: Buona pratica di laboratorio!</b> Utilizzare secondo i principi della buona pratica di laboratorio.

## Segnalazione degli eventi avversi

Qualsiasi incidente grave verificatosi in relazione al dispositivo deve essere segnalato al fabbricante e all'autorità competente dello Stato membro in cui è stabilito l'utilizzatore e/o il paziente.

## Risoluzione dei problemi

Problema	Causa(e) potenziale(i)	Soluzione consigliata
Al microscopio non vengono rilevati segnali FISH.	• Otturatore a luce riflessa chiuso / slitte di arresto inserite nel percorso della luce.	• Aprire l'otturatore / spostare la slitta di arresto fuori dal percorso della luce.
	• La lampada fluorescente è spenta.	• Accendere la lampada fluorescente.
	• Un filtro di fluorescenza sbagliato si trova nel percorso della luce.	• Spostare il filtro corretto nel percorso della luce.
	• L'obiettivo è fuori posizione.	• Posizionare correttamente l'obiettivo nel percorso della luce.
	• Il fototubo è in posizione di cattura.	• Direzioneare il percorso della luce verso gli oculari.
I segnali di ibridazione diventano deboli dopo un po' di tempo.	• L'olio ad immersione è penetrato tra il vetrino porta-oggetto e il vetrino copri-oggetto	• Sostituire il vetrino copri-oggetto e il DAPI/antifade. Utilizzare un vetrino copri-oggetto da 24 mm x 32 mm anche se viene ibridata solo una piccola regione.
Segnali diffusi.	• La preparazione non è adeguatamente illuminata.	• Controllare il percorso ottico del microscopio. Regolare correttamente la luce UV. Controllare la durata della lampada UV.
	• Il piano di messa a fuoco non può essere regolato correttamente.	• Utilizzare una quantità sufficiente di olio ad immersione. Non mescolare oli ad immersione diversi. Utilizzare un olio ad immersione adatto alla fluorescenza. • Lo strato di DAPI/antifade è troppo spesso per la messa a fuoco. Non utilizzare una quantità eccessiva di DAPI/antifade. Sono sufficienti 10 µl per vetrino (coprioggetto da 24 mm x 32 mm). • Utilizzare coprioggetti adeguati.
Segnali deboli.	• Campione troppo vecchio.	• I vetrini non dovrebbero essere più vecchi di due settimane. Se i vetrini non vengono utilizzati entro questo periodo, conservarli a -20 °C (±5 °C).
	• La denaturazione non è adeguata.	• L'invecchiamento, la cottura o l'ulteriore fissazione possono inibire l'ibridazione e non sono raccomandati. • Aumentare la temperatura di denaturazione fino a 80 °C o aumentare il tempo di denaturazione a 3 minuti.
	• Per la visualizzazione viene utilizzato un filtro multibanda.	• Utilizzare un filtro passabanda singolo dedicato.
Segnali deboli di colore verde o aqua o sfondo ad alta diffusione nel canale del colore verde.	• L'intensità del DAPI è troppo elevata, con conseguente cross-talk con il filtro AQUA o il filtro VERDE.	• Utilizzare DAPI/antifade a bassa concentrazione.
	• Il valore del pH delle soluzioni di lavaggio è troppo basso.	• Assicurarsi che il valore del pH delle soluzioni sia compreso tra 7,0 e 7,5. Alcuni fluorofori verdi sono molto sensibili a un pH inferiore a 7.
Elevato fondo aspecifico.	• Le proteine citoplasmatiche residue delle cellule possono compromettere l'ibridazione.	• Pretrattare i vetrini con pepsina.

Se le raccomandazioni consigliate non risolvono il problema o se il problema non è presente nell'elenco, contattare MetaSystems Probes.

## Assistenza clienti

Contattare MetaSystems Probes GmbH (per i contatti, vedere sotto).



MetaSystems Probes GmbH  
1. Industriestrasse 7  
68804 Altlußheim  
Germania

Tel.: +49 (0)6205 292760  
Fax: +49 (0)6205 2927629  
email: [info@metasystems-probes.com](mailto:info@metasystems-probes.com)  
website: [www.metasystems-probes.com](http://www.metasystems-probes.com)

MetaSystems Probes non riconosce alcun interesse proprietario nei marchi e nei nomi di altri.

Per una *sintesi della sicurezza e delle prestazioni*, visitate il sito web <https://ec.europa.eu/tools/eudamed/#/screen/home> o informatevi presso [info@metasystems-probes.com](mailto:info@metasystems-probes.com).

## Simboli utilizzati

Simbolo	Descrizione
	Indica un <i>dispositivo medico</i> destinato a essere utilizzato come <i>dispositivo medico-diagnostico</i> in vitro.
	Marchio di conformità che indica che un dispositivo è conforme ai requisiti normativi applicabili nell'Unione Europea.
	Indica il <i>produttore del dispositivo medico</i> .
	Indica che è necessario prestare attenzione quando si aziona il dispositivo o il comando in prossimità del punto in cui è posizionato il <i>simbolo</i> , oppure che la situazione attuale richiede la consapevolezza o l'intervento dell'operatore per evitare conseguenze indesiderate.
	Indica la necessità di consultare le <i>istruzioni per l'uso</i> .

## Revisione del documento

Revisione	Data di emissione	Indicazione per il cambiamento
CE-IVD-RevA250212-250212v10.2	13.02.2025	IFU aggiornate in base al REGOLAMENTO (UE) 2017/746 sui dispositivi medico-diagnostici in vitro. L'aggiornamento non influisce direttamente sulle caratteristiche del dispositivo e non ha un impatto sulla composizione o sugli ingredienti dei nostri prodotti. Inoltre, non influisce sulle modalità di applicazione dei nostri prodotti, ma comporta modifiche alle informazioni fornite con il prodotto come etichette, destinazione d'uso e istruzioni per l'uso.