

IVD

CE 2797

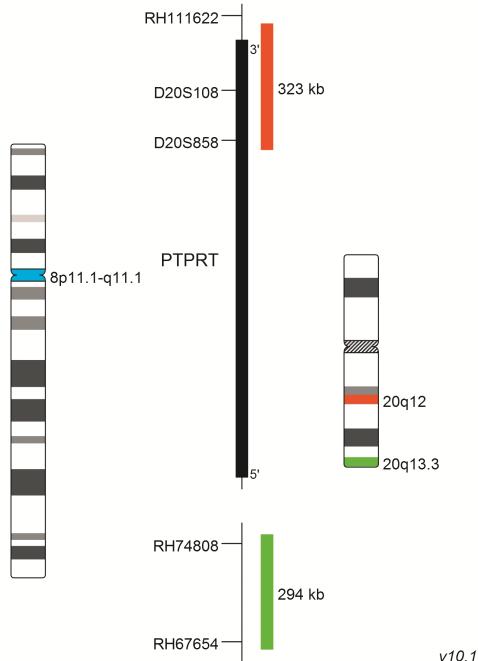
**Istruzioni per l'uso**

Solo per uso professionale



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

Prodotto	Marcatura	Numero di riferimento	UDI-DI	Confezionamento
XL 20q12/20qter/8cen plus	verde/arancione/blu	D-5122-100-TC	04251315812581	100 µl

**Destinazione d'uso**

La sonda XL 20q12/20qter/8cen plus è un test qualitativo, non automatizzato, per la rilevazione di variazioni del numero di copie del cromosoma 8, delezioni della regione del gene *PTPRT* in 20q12 e isoderivazioni del cromosoma 20q mediante ibridazione *in situ* a fluorescenza (FISH). Il prodotto è destinato a essere un ausilio diagnostico e a contribuire al monitoraggio della malattia. La popolazione del test è costituita da pazienti con leucemia mieloide acuta (AML), neoplasie mielodisplastiche (MDS), neoplasie mielodisplastiche/mieloproliferative (MDS/MPN) e neoplasie mieloproliferative (MPN) confermata o sospetta. 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 20q12/20qter/8cen plus è costituita da una sonda marcata in acqua che ibridizza con il centromero del cromosoma 8, una sonda marcata in arancione che ibridizza con la regione del gene *PTPRT* in 20q12 e una sonda marcata in verde che ibridizza con una regione in 20q13.3.

**Cross-reactività nota**

Non sono note ibridazioni incrociate.

**Materiali forniti**

100 µl (10 test) di XL 20q12/20qter/8cen plus, la sonda è discolta 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 ( $\pm 5$  °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.

## Attrezzi 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  $\mu$ l e 1 ml, calibrate
- Misuratore di pH, calibrato
- Congelatore -20 °C ( $\pm 5$  °C)
- Camera umidificata 37 °C ( $\pm 1$  °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

Marcatura	Eccitazione max.	Emissione max.
Blu (aqua)	426 nm	480 nm
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.

Le cellule fissate in metanolo/acido acetico vengono preparate da aspirati di midollo osseo o sangue periferico. Ulteriori dettagli sulle procedure standard sono disponibili nei manuali e nelle pubblicazioni di laboratorio (ad esempio, The AGT Cytogenetics Laboratory Manual, 4th Edition).

### Stabilità dei vetrini ibridati

- I vetrini FISH ibridati possono essere analizzati per almeno sei mesi se conservati al buio a -20 °C ( $\pm 5$  °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 ( $\pm 5$  °C).
- Applicare 10  $\mu$ l 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 ( $\pm 1$  °C) per 2 minuti

### Ibridazione

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

### Lavaggi post-ibridazione

#### Soluzioni richieste

- 0,4x SSC (pH 7,0 - 7,5) a 72 °C ( $\pm 1$  °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 ( $\pm 1$  °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.
- Sciacquare 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  $\mu$ l 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 ( $\pm 5$  °C).

## Risultati attesi

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

### Cellula normale:

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



### Cellula aberrante (risultati tipici):

Due segnali blu (2B), due verdi (2G) e uno arancione (1O) risultanti dalla perdita di un segnale arancione.



### Cellula aberrante (risultati tipici):

Due segnali blu (2B), tre verdi (3G) e uno arancione (1O) derivanti dalla presenza di ider(20q).



### Cellula aberrante (risultati tipici):

Tre segnali blu (3B), due verdi (2G) e uno arancione (1O) risultanti dalla perdita di un segnale arancione e dal guadagno del cromosoma marcato in blu.



## 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 2B (normale)	99.3 %	0.6 %

### 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
2G 1O 2B	2.6 %
2G 1O 3B	0.8 %
3G 1O 2B	0.8 %

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 riproducibilità 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 riproducibilità 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	1.2 %
Da lotto a lotto stesso individuo e stesso giorno con tre lotti	0.0 %
Da campione a campione stesso lotto e giorno con tre individui	1.2 %

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 riproducibilità in condizioni diverse è stato determinato con ≤5 % di deviazione standard relativa (% DSR). Pertanto, è stato concluso un grado di deviazione dalla media in condizioni uguali con ≤5 % di deviazione standard relativa (% DSR).

## Prestazioni cliniche

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 (vedere 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). La coorte del test comprende pazienti con ALL, AML, CLL, CMML, MDS, MDS/MPN, MPN e NHL confermata o sospetta. I campioni sono stati ottenuti da midollo osseo e sangue periferico.

Riarrangiamento	Numero di casi	Sensibilità diagnostica	Specificità diagnostica
Delezioni della regione del gene PTPRT in 20q12	7811	99.5 %	100 %
Cromosomi isoderivati 20q	7811	100 %	100 %
Variazioni del numero di copie del cromosoma 8	464	100	100

## 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.



### PERICOLO

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:  
 ATTENZIONE: bagno in acqua calda e piastre calde!  
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.



### ATTENZIONE: Buona pratica di laboratorio!

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.	<ul style="list-style-type: none"> <li>Otturatore a luce riflessa chiuso / slitte di arresto inserite nel percorso della luce.</li> <li>La lampada fluorescente è spenta.</li> <li>Un filtro di fluorescenza sbagliato si trova nel percorso della luce.</li> <li>L'obiettivo è fuori posizione.</li> <li>Il fototubo è in posizione di cattura.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Aprire l'otturatore / spostare la slitta di arresto fuori dal percorso della luce.</li> <li>Accendere la lampada fluorescente.</li> <li>Spostare il filtro corretto nel percorso della luce.</li> <li>Posizionare correttamente l'obiettivo nel percorso della luce.</li> <li>Direzionare il percorso della luce verso gli oculari.</li> </ul>
I segnali di ibridazione diventano deboli dopo un po' di tempo.	<ul style="list-style-type: none"> <li>L'olio ad immersione è penetrato tra il vetrino porta-oggetto e il vetrino copri-oggetto</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>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.</li> </ul>
Segnali diffusi.	<ul style="list-style-type: none"> <li>La preparazione non è adeguatamente illuminata.</li> <li>Il piano di messa a fuoco non può essere regolato correttamente.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Controllare il percorso ottico del microscopio. Regolare correttamente la luce UV. Controllare la durata della lampada UV.</li> <li>Utilizzare una quantità sufficiente di olio ad immersione. Non mescolare oli ad immersione diversi. Utilizzare un olio ad immersione adatto alla fluorescenza.</li> <li>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).</li> <li>Utilizzare coprioggetti adeguati.</li> </ul>
Segnali deboli.	<ul style="list-style-type: none"> <li>Campione troppo vecchio.</li> <li>La denaturazione non è adeguata.</li> <li>Per la visualizzazione viene utilizzato un filtro multibanda.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>I vetrini non dovrebbero essere più vecchi di due settimane. Se i vetrini non vengono utilizzati entro questo periodo, conservarli a -20 °C (<math>\pm 5</math> °C).</li> <li>L'invecchiamento, la cottura o l'ulteriore fissazione possono inibire l'ibridazione e non sono raccomandati.</li> <li>Aumentare la temperatura di denaturazione fino a 80 °C o aumentare il tempo di denaturazione a 3 minuti.</li> <li>Utilizzare un filtro passabanda singolo dedicato.</li> </ul>
Segnali deboli di colore verde o aqua o sfondo ad alta diffusione nel canale del colore verde.	<ul style="list-style-type: none"> <li>L'intensità del DAPI è troppo elevata, con conseguente cross-talk con il filtro AQUA o il filtro VERDE.</li> <li>Il valore del pH delle soluzioni di lavaggio è troppo basso.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Utilizzare DAPI/antifade a bassa concentrazione.</li> <li>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.</li> </ul>
Elevato fondo aspecifico.	<ul style="list-style-type: none"> <li>Le proteine citoplasmatiche residue delle cellule possono compromettere l'ibridazione.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Pretrattare i vetrini con pepsina.</li> </ul>
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.

## 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 simbolo, 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-RevA250212-250212v10.1	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 influenza 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.