IVD CE 2797

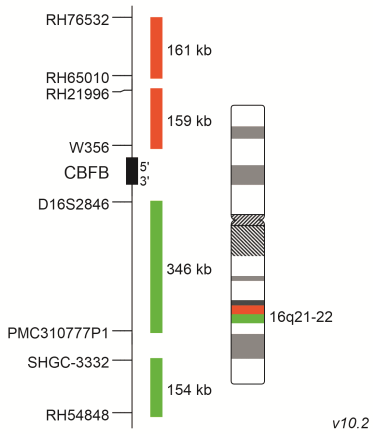
Naudojimo instrukcija

Tik profesionaliam naudojimui

MetaSystems Probes

Daugiau informacijos ir kitomis kalbomis galima rasti adresu www.metasystems-probes.com
el. paštas: info@metasystems-probes.com

Produktas	Žymuo	Katalogo Nr.	UDI-DI	Pakuotės dydis
XL CBFB	oranžinis/žalias	D-5092-100-OG	04251315812314	100 µl



Naudojimo paskirtis

XL CBFB break-apart zondas yra kokybinis neautomatizuotas testas, skirtas *CBFB* persitvarkymams 16q22 nustatyti fluorescencinės in situ hibridizacijos (FISH) metodu. Produktas skirtas kaip diagnostinė pagalba ir padeda stebėti ligą. Tyrimo populiaciją sudaro pacientai, sergantys patvirtinta arba įtariama ūmine mieloidine leukemija (AML). Hibridizacija atliekama su metanoliu ir acto rūgštimi fiksuotomis ląstelėmis, gautomis iš kaulų čiulpų arba periferinio kraujo.

Produkto aprašymas

XL CBFB break-apart zondą sudaro oranžiškai žymėtas zondas, kuris hibridizuojasi proksimaliai nuo *CBFB* geno srities 16q21-22, ir žaliai žymėtas zondas, kuris hibridizuojasi distaliai nuo *CBFB* geno srities 16q22.

Žinomas kryžminis reaktyvumas

Nėra žinomų kryžminių hibridizacijų.

Pateikti reagentai

100 µl (10 testų) XL CBFB, zondas ištirpintas hibridizacijos tirpale (> 50 % v/v formamido, < 30 % w/v dekstrano sulfato ir < 2x SSC (fiziologinis druskos ir natrio citratas)) ir yra paruoštas naudoti.

Apribojimai

FISH gautų diagnostinių rezultatų analizę, duomenų interpretavimą ir ataskaitų teikimą turėtų atlikti kvalifikuoti ir patyrę darbuotojai, laikydamiesi profesinių normų ir atitinkamų gairių. Šis produktas nėra skirtas naudoti kaip vienintelis diagnostinis, ligų atrankos ar lydinčiosios diagnostikos įrankis. Diagnostinis tyrimas, naudojant šį produktą, visada atliekamas kartu su kitais diagnostiniais metodais. Nukrypimai nuo gamintojo protokolų gali turėti įtakos tyrimo patikimumui ir efektyvumui bei lemti klaidinančias išvadas. Zondo žemėlapiai sudaromi pagal numatytą gaminio paskirtį. Vienspalvės juostos nebūtinai reiškia, kad zondas visiškai padengia nurodytą genomo sritį. Rodomi tik didesni nei 10 kb tarpai. Dėl šios priežasties, patariama atsargiai interpretuoti rezultatus, gautus naudojant produktą ne pagal paskirtį. Daugiau informacijos galima gauti pateikus užklausą.

Vokietijoje įsikūrusi IVD gamintoja ir platintoja MetaSystems Probes laikosi galiojančių Europos ir Vokietijos teisės aktų, kurie draudžia teikti bet kokius pareiškimus dėl su pacientais susijusių duomenų interpretavimo, taip pat diagnostines ir gydymo rekomendacijas.

Laikymas ir naudojimas

Zondai turi būti laikomi tamsoje -20 °C (±5 °C) temperatūroje. Nustatyta, kad zondų veikimas nepakinta iki 20 užšaldymo-atšildymo ciklų. Zondai yra jautrūs šviesai, todėl dirbant su jais šviesos poveikis turėtų būti kuo mažesnis.

Pristatymas

MetaSystems Probes gaminami produktai siunčiami kambario temperatūros sąlygomis.

Kita būtina įranga ir medžiagos, neįtrauktos į produkto sudėtį

- Vandens vonelė su tiksliu temperatūros reguliavimu
- Laboratorinė kaitlentė su ištisine kaitinimo plokšte ir tiksliu temperatūros reguliavimu
- Mikropipetės, kurių tūris nuo 1 µl iki 1 ml, kalibruotos
- Kalibruotas pH matuoklis
- Šaldiklis -20 °C (±5 °C)
- Drėkinimo kamera 37 °C (± 1 °C)
- Fluorescencinis mikroskopas su tinkamais filtrais (žr. toliau)
- Imersinis aliejus, pagal mikroskopo gamintojo rekomendacijas (fluorescencijos klasės)
- Termometras
- DAPI/antifade
- Rubber Cement – gumos klijai
- Mikroskopo stikleliai
- Dangteliai (stikliniai): 22 mm x 22 mm ir 24 mm x 32 mm
- Pirštinės
- Coplin dažymo indas
- Pincetas
- 20x SSC
- Tween-20
- Distiliuotas vanduo
- Mikrocentrifuga
- Laikmatis

Fluorochromo specifikacija

Žymuo	Sužadinimo maksimumas	Emisijos maksimumas
Žalias	505 nm	530 nm
Oranžinis	552 nm	576 nm

Fluorescencinio mikroskopo rekomendacija

- Fluorescencinis apšvietimas: tinkamas metalo halogenidas arba LED fluorescencinės apšvietimo sistemos arba įprasti 100 vatų gyvsidabrio lempų šviestuvai.
- Objektyvai, tinkami epi-fluorescenciniam apšvietimui.
- Fluorescencijos filtrai: Peržiūrai ir signalų skaičiavimui naudokite tinkamą kelių juostų filtrų rinkinį. Norėdami fiksuoti vaizdus arba stebėti atskirus spalvinius kanalus mikroskope, naudokite tinkamus vienos juostos filtrų rinkinius atitinkamiems fluorochromams (pvz., iš MetaSystems).

Veikimo principas

Fluorescencinės in situ hibridizacijos metodas (FISH) naudoja DNR fragmentus, į kuriuos su fluoroforais susieti nukleotidai yra įterpti, kad fiksuotose ląstelėse fluorescenciniu mikroskopu būtų galima aptikti komplementarias DNR sekas. Pasirinktų zondų ir paciento DNR yra denatūruojamos - atsiskiria dvi dvigubos spiralės DNR grandinės. Vėliau renatūravimo metu DNR zondai hibridizuojasi su paciento DNR komplementariomis sekomis.

Mėginio paruošimas

Bendrosios pastabos

Gaminys skirtas naudoti taip, kaip nurodyta jo naudojimo paskirtyje. Metanolyje ir acto rūgštyje fiksuotos ląstelės ruošiamos iš kaulų čiulpų aspiratų arba periferinio kraujo. Išsamesnės informacijos apie standartines procedūras galima rasti laboratorijos vadovuose ir leidiniuose (pvz., The AGT Cytogenetics Laboratory Manual, 4-asis leidimas).

Hibridizuotų skaidrių stabilumas

- Hibridizuotus FISH preparatus galima analizuoti mažiausiai šešis mėnesius, jei jie laikomi tamsoje -20 °C (±5 °C) temperatūroje.

Papildomos proceso rekomendacijos

- Matuojant tirpalų, vandens vonelių ir inkubatorių temperatūrą labai rekomenduojama naudoti kalibruotą termometrą, nes ši temperatūra yra labai svarbi optimaliam produkto veikimui.
- Atidžiai patikrinkite iš anksto pašildytų tirpalų temperatūrą.
- Atidžiai patikrinkite visų tirpalų pH vertę. Ji turi būti 7,0-7,5 kambario temperatūros intervale.
- Buferių koncentracija (griežtumas), pH ir temperatūra yra svarbūs tyrimo faktoriai, nes mažas griežtumas gali lemti nespecifinį zondo surišimą, o per didelis griežtumas gali lemti sumažėjusį signalo intensyvumą arba jo nebuvimą.
- Prieš atidarant: trumpai nusukite, kad surinktumėte mėgintuvėlio dugne nusėdusį zondą.

MetaSystems DNR zondų FISH protokolas

Tepinėlio paruošimas

1. Užlašinkite ląstelių mėginį ant mikroskopo stiklelio. Leiskite išdžiūti ore. Jei stikleliai nenaudojami per kelias artimiausias dienas, laikykite juos -20 °C (±5 °C) temperatūroje.
2. Padenkite mėginį 10 µl zondu.
3. Uždenkite 22 mm x 22 mm dengiamuoju stiklu.
4. Uždenkite Rubber Cement – gumos klijais.

Denatūracija

1. Vienu metu denatūruokite mėginį ir zondą, 2 min. kaitindami ant laboratorinės kaitlentės 75 °C (±1 °C) temperatūroje.

Hibridizacija

1. Inkubuokite drėkinimo kameroje 37 °C (±1 °C) temperatūroje per naktį.

Plovimai po hibridizacijos

Reikalingi tirpalai

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

Procedūra

1. Atsargiai nuimkite dengiamąjį stikliuką ir visus klijų pėdsakus.
2. Plaukite objektinį stikliuką 0,4x SSC (pH 7,0) 72 °C (±1 °C) temperatūroje 2 min.
3. Nusausinkite objektinį stikliuką ir 30 sekundžių plaukite 2x SSC, 0,05 % Tween-20 (pH 7,0) kambario temperatūroje.
4. Trumpai nuplaukite distiliuotu vandeniu, kad nesusidarytų kristalų, ir leiskite išdžiūti ore.

Kontrastinis dažiklis

Reikalingi tirpalai:

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

Procedūra:

1. Padenkite mėginį 10 µl DAPI/antifade ir uždenkite 24 mm x 32 mm dengiamuoju stiklu.
2. Leiskite DAPI/antifade prasiskverbti 10 min.
3. Atlikite mikroskopiją ir analizę.
4. Stikliukus laikykite -20 °C (±5 °C) temperatūroje.

Tikėtini rezultatai

Parodytos tik dažniausiai pasitaikančios signalų konsteliacijos, galima pastebėti ir kitus svarbius signalų modelius.

Normali ląstelė:
Du žalios ir oranžinės spalvos kolokalizacijos/ susiliejimo signalai (2GO).



Aberantinė ląstelė (tipiniai rezultatai):
Vienas žalios ir oranžinės spalvos kolokalizacijos/ susiliejimo signalas (1GO), po vieną atskirą žalios (1G) ir oranžinės (1O) spalvos signalą, atsiradę dėl chromosomos trūkio atitinkamame lokuse.



Analitinis našumas

Analitinio našumo duomenys buvo gauti naudojant interfazinius branduolius iš PHA stimuliuojamų limfocitų kultūros. Ląstelių paėmimas atliktas pagal citogenetinius standartus. Rezultatų lygiavertiškumas tarp nestimuliuotų kaulų čiulpų kultūrų ir PHA stimuliuotų limfocitų buvo užtikrintas lyginamuoju tyrimu.

Analitinis specifiškumas

Specifiškumas apskaičiuojamas kaip teisingai aptiktų taikinių procentinė dalis nuo bendro aptiktų taikinių skaičiaus.

Apskaičiuotas analitinis specifiškumas yra 100 % po 20 įvertintų metafazių iš 5 skirtingų kariotipiškai normalių vyrų.

Analitinis jautrumas

Analitinis jautrumas apskaičiuojamas kaip interfazinių branduolių, tikėtinai turinčių normalaus signalo variantą, procentinė dalis nuo visų analizuojamų interfazinių branduolių skaičiaus. Buvo išanalizuota 400 branduolių iš kiekvieno 10 kariotipiškai normalių individų.

Nukrypimo nuo vidurkio laipsnį rodo santykinis standartinis nuokrypis (% RSD).

Modelis	Jautrumas	% RSD
2GO (normalus)	98.6 %	0.9 %

Ribinė vertė

Ribinė vertė kokybiniam tyrimo testui - tai riba, kurią viršijus rezultatas laikomas teigiamu, kurios nepasiekus - rezultatas laikomas neigiamu.

Ribinė vertė buvo apskaičiuota remiantis zondų hibridizacija tarpfaziniuose branduoliuose, gautuose iš 10 kariotipiškai normalių asmenų. Ribinės vertės nustatytos remiantis 400 įvertintų branduolių.

Modelis	Ribinė vertė
1GO 1G 1O	5.1 %

Ribinė vertė yra informatyvi ir priklauso nuo kelių su laboratorija susijusių parametrų. Dėl šios priežasties diagnostiniam naudojimui, ribines vertes kiekviena laboratorija turi nusistatyti individualiai.

Tikslumas (atkuriamumas / pakartojamumas)

Atkuriamumas - tai analitinio jautrumo tyrimų, atliktų skirtingomis sąlygomis (diena, partija ir mėginys), rezultatų atitikimo laipsnis. Kiekvienai sąlygai buvo atliekamos trys analizės, kiekvienai iš jų naudojant po 100 branduolių.

Atkuriamumas nurodomas kaip nuokrypio laipsnis gautas iš vidurkio pagal santykinį standartinį nuokrypį (%RSD).

Sąlygos	Atkuriamumas % RSD
Dienos sąlyga ta pati partija ir tas pats asmuo tris dienas	0.6 %
Partijos sąlyga tas pats asmuo ir ta pati diena su trimis partijomis	0.6 %
Mėginio sąlyga ta pati partija ir diena su trimis asmenimis	1.2 %

Pakartojamumas - tai tyrimų, atliktų tomis pačiomis sąlygomis, sutapimo laipsnis. Atskiri pakartojamumo tyrimai nebuvo atliekami, nes atliekant pakartojamumo tyrimus skirtingomis sąlygomis nuokrypio nuo vidurkio laipsnis buvo nustatytas esant ≤5 % santykiniam standartiniam nuokrypiui (% RSD). Taigi buvo padaryta išvada, kad nuokrypio laipsnis nuo vidurkio esant vienodoms sąlygoms yra ≤5 % santykinis standartinis nuokrypis (% RSD).

Klinikiniai rezultatai

Paskelbta literatūra

Produkto klinikinio veiksmingumo teiginiai, susiję su numatytu tikslu, buvo pagrįsti moksline literatūra, susijusia su produktu ir būkle, kuri analizuojama naudojant produktą.

- Nelson et al (2020) Br J Haematol. 191:935-938
- Lim et al (2021) J Mol Diagn. 23:1015-1029
- Aman et al (2022) J Lab Physicians. 15:142-145
- Bravo-Perez et al (2024) J Cell Mol Med. 28:e17961

Paskelbti duomenys, atliekant įprastus diagnostinius tyrimus

Įprastinių diagnostinių tyrimų duomenys buvo gauti iš Europos diagnostikos laboratorijų ir paskelbti "MetaSystems" zondų svetainėje (žr. atitinkamą veiksmingumo duomenų lapą atitinkamame šio konkretaus gaminio atsisiuntimo skyriuje). Tikslinio žymens buvimas teigiamais atvejais ir nebuvimas neigiamais atvejais, aptiktais FISH metodu, buvo patvirtintas etaloninėmis technologijomis (chromosomų juostų analizė). Tyrimo grupę sudaro pacientai, kuriems patvirtinta arba įtariama AML ir CLL. Mėginiai buvo paimti iš kaulų čiulpų ir periferinio kraujo.

Pertvarkymas	Atvejų skaičius	Diagnostinis jautrumas	Diagnostinis specifiškumas
CBFB persitvarkymai 16q22	969	100 %	99.8 %

Kiti klinikinės veiklos duomenų šaltiniai

Įvertinus diagnostinio validavimo duomenis, surinktus kaip IVDD dalis ir priskiriamus kitiems klinikinio veiksmingumo duomenų šaltiniams, matyti, kad XL CBFB teisingai nustatė visus 5 analizuotus aberacijos atvejus.

Kokybės kontrolės procedūra

Pirmą kartą naudojant šį gaminį diagnostikai, reikia patikrinti, ar jis veikia taip, kaip tikimasi. Reikia atsižvelgti į naujų FISH diagnostikos tyrimų gaires ir rekomendacijas (pvz., CLSI Fluorescence In Situ Hybridization Methods for Clinical Laboratories; Approved Guideline – Second Edition).

Saugos instrukcijos

Visi MetaSystems Probes gaminami zondai yra skirti tik profesionaliam naudojimui, juos turi naudoti kvalifikuotas ir apmokytas personalas. Kad užtikrintumėte saugų darbą ir atkuriamus rezultatus, laikykitės toliau pateiktų saugos pranešimų ir įspėjamųjų ženklų.



PAVOJUS

Sudėtyje yra:	Formamidas
Pavojingumo frazės:	H360FD Gali pakenkti vaisingumui. Gali pakenkti negimusiam vaikui. H351 Įtariama, kad sukelia vėžį. H373 Ilgalaikis arba kartotinis poveikis gali pažeisti organus.
Atsargumo pareiškimai:	P201 Prieš naudodami gaukite specialias instrukcijas. P260 Nejkvėpti dulkių/dūmų/dujų/rūko/garų/ aerozolio. P280 Dėvėkite apsaugines pirštines ir (arba) apsauginius drabužius. P308+ P313 Esant sąlyčiui arba jeigu numanomas sąlytis: kreiptis į gydytoją. P501 Turinį/talpyklą utilizuokite pagal vietines/ regionines/nacionalines/tarptautines taisykles.
Specialus ženklinimas:	Skirta tik profesionaliems naudotojams.



DĖMESIO: karšto vandens vonelė ir karštos laboratorinės kaitlentės!

Denatūravimui ir hibridizacijai naudojamos karšta vandens vonelės ir karšta laboratorinė kaitlentė, kurių temperatūra >37 °C. Būkite atsargūs, kad tiesiogiai nesiliestumėte su karštais paviršiais ar skysčiais.
Mūvėkite pirštines ir dėvėkite laboratorinį chalatą.
Patekus ant odos, nedelsiant atvėsinti šaltu vandeniu.



DĖMESIO: gera laboratorinė praktika!

Naudokite vadovaudamiesi geros laboratorinės praktikos principais.

Pranešimas apie nepageidaujamą įvykį

Apie bet kokį su prietaisu susijusį rimtą incidentą pranešama gamintojui ir valstybės narės, kurioje yra įsisteigęs naudotojas ir (arba) pacientas, kompetentingajai institucijai.

Trikčių šalinimas

Problema	Galima (-os) priežastis (-ys)	Rekomenduojamas sprendimas
Mikroskopu neaptinkama jokių FISH signalų.	• Atspindėtos šviesos užraktas uždarytas / stabdymo slankiklis šviesos kelyje.	• Atidarykite užraktą / pastumkite stabdymo slankiklį iš šviesos kelio.
	• Fluorescencinė lempa yra išjungta.	• Įjunkite fluorescencinę lempą.
	• Šviesos kelyje yra netinkamas fluorescencijos filtras.	• Perkelkite tinkamą filtrą į šviesos kelią.
	• Objektyvas yra netinkamoje padėtyje.	• Pasukite objektyvą į šviesos kelią.
	• Fototubusas yra kameros padėtyje.	• Nukreipkite šviesos kelią į okuliarus.
Po kurio laiko hibridizacijos signalai tampa silpni.	• Aliejus prasiskverbė tarp objektinio stiklelio ir dangtelio.	• Pakeiskite dengiamąjį stikliuką ir DAPI/antifade. Naudokite 24 mm x 32 mm dengiamąjį stikliuką, net jei hibridizuojama tik nedidelė sritis.
Išsklaidyti signalai.	• Mėginys nėra tinkamai apšviestas.	• Patikrinkite mikroskopo optinį kelią. Tinkamai sureguliuokite UV šviesą. Patikrinkite UV lempos tarnavimo laiką.
	• Fokusavimo plokštumos negalima tinkamai sureguliuoti.	• Naudokite pakankamai imersinio aliejaus. Nemaišykite skirtingų imersinių aliejų. Naudokite fluorescencijai tinkamą imersinį aliejų. • Nuo išblukimo apsaugantis sluoksnis yra per storas, kad būtų galima fokusuoti. Nenaudokite per daug DAPI/antifade. Vienam stikleliui padengti (24 mm x 32 mm dengiamasis stiklelis) pakanka 10 µl DAPI/antifade. • Naudokite tinkamus dengiamuosius stikliukus.
Silpni signalai.	• Skaidrės paruošimas yra per senas.	• Skaidrės turi būti ne senesnės kaip dviejų savaičių. Jei stikleliai per šį laikotarpį nenaudojami, laikykite juos -20 °C (±5 °C) temperatūroje.
	• Denatūravimas nėra tinkamas.	• Senėjimas, kepimas ar tolesnis fiksavimas gali slopinti hibridizaciją, todėl nerekomenduojama. • Padidinkite denatūravimo temperatūrą iki 80 °C arba pailginkite denatūravimo laiką iki 3 min.
	• Peržiūrai naudojamas kelių juostų filtras.	• Naudokite specialų vienos dažnių juostos filtrą.
Silpni aqua arba žali signalai arba stiprus difuzinis fonas žaliame spalvų kanale.	• DAPI intensyvumas yra per didelis, todėl susikerta su AQUA filtru arba ŽALIAS filtru.	• Naudokite mažos koncentracijos DAPI/antifade.
	• plovimo tirpalų pH vertė yra per maža.	• Užtikrinkite, kad tirpalų pH vertė būtų nuo 7,0 iki 7,5. Kai kurie žalieji fluoroforai yra labai jautrūs mažesniam nei 7 pH.
Didelis nespecifinis fonas.	• Likę ląstelių citoplazmos baltymai gali trukdyti hibridizacijai.	• Stikliukus iš anksto apdorokite pepsinu.
Jei rekomenduojami sprendimai neišsprendžia problemos arba jūsų problema nėra įtraukta į sąrašą, kreipkitės į MetaSystems Probes.		

Klientų aptarnavimas

Kreipkitės į MetaSystems Probes GmbH (kontaktinę informaciją žr. toliau) arba į mūsų įgaliotąjį platintoją savo šalyje.

MetaSystems Probes GmbH
1. Industriestrasse 7
68804 Altlussheim
Vokietija

Tel.: +49 (0)6205 292760
Faksas: +49 (0)6205 2927629
el. paštas: info@metasystems-probes.com
interneto svetainė: www.metasystems-probes.com

MetaSystems Probes atsisako bet kokių nuosavybės teisių į kitų asmenų prekių ženklus ir pavadinimus.

Saugos ir eksploatacinių savybių santrauką rasite svetainėje https://ec.europa.eu/tools/eudamed/#/screen/home arba teiraukitės adresu info@metasystems-probes.com.

Naudojami simboliai

Simbolis	Aprašymas
IVD	Nurodo *medicinos prietaisą, skirtą* naudoti kaip in vitro diagnostikos *medicinos prietaisą.*
CE	Atitikties ženklas, kuriuo pažymima, kad prietaisas atitinka Europos Sąjungoje taikomus norminius reikalavimus.
	Nurodo *medicinos prietaiso gamintoją.*
⚠	Nurodo, kad būtina laikytis atsargumo, kai prietaisas ar valdiklis naudojamas netoli tos vietos, kurioje yra *simbolis, arba* kad esama situacija reikalauja operatoriaus sąmoningumo ar veiksmų, kad būtų išvengta nepageidaujamų pasekmių.
	Nurodo, kad naudotojui reikia susipažinti su *naudojimo instrukcijomis*.

Dokumento peržiūra

Peržiūra	Išleidimo data	Pokyčio požymis
LT-CE-IVD-RevB261021-251013v10.2	11.11.2026	Atnaujintas IFU pagal Reglamentą (ES) 2017/746 dėl in vitro diagnostikos medicinos prietaisų. Atnaujinimas neturi tiesioginio poveikio prietaiso charakteristikoms ir nedaro įtakos mūsų gaminių sudėčiai ar sudedamosioms dalims. Jis taip pat nedaro įtakos mūsų gaminių naudojimo būdui, tačiau sukelia su gaminiu pateikiamos informacijos, kaip etiketės, paskirties ir naudojimo instrukcijos, pakeitimus.