IVD CE 2797

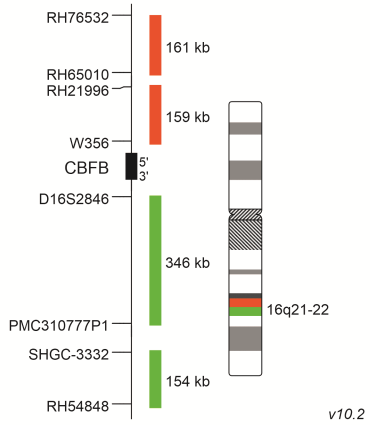
Instrucțiuni de utilizare

Numai pentru uz profesional

MetaSystems Probes

Informații suplimentare și în alte limbi sunt disponibile la www.metasystems-probes.com
e-mail: info@metasystems-probes.com

Produs	Marcarea	Nr. de referință	UDI-DI	Dimensiunea pachetului
XL CBFB	portocaliu/verde	D-5092-100-OG	04251315812314	100 µl



Scopul urmărit

Sonda XL CBFB break-apart este un test calitativ, neautomatizat pentru detectarea rearanjamentelor *CBFB* la 16q22 prin hibridizare in situ cu fluorescență (FISH). Produsul este destinat ca ajutor de diagnosticare și ajută la monitorizarea bolii. Populația de testare este formată din pacienți cu leucemie mieloidă acută (AML) confirmată sau suspectată. Hibridizarea se efectuează pe celule fixate cu metanol/acid acetic derivate din măduvă osoasă sau sânge periferic.

Descrierea produsului

Sonda XL CBFB break-apart constă dintr-o sondă marcată cu portocaliu care se hibridizează proximal la regiunea genei *CBFB* la 16q21-22 și o sondă marcată cu verde care se hibridizează distal la regiunea genei *CBFB* la 16q22.

Reactivitate încrucișată cunoscută

Nu se cunosc hibridări încrucișate.

Materiale puse la dispoziție

100 µl (10 teste) de XL CBFB, sonda este dizolvată în soluție de hibridizare (> 50 % v/v formamidă, < 30 % p/v sulfat de dextran și < 2x SSC (citrat salin de sodiu)) și este gata de utilizare.

Limitări

Analiza, interpretarea datelor și raportarea rezultatelor diagnostice obținute prin FISH ar trebui efectuate în conformitate cu normele profesionale și cu orientările relevante de către personal calificat și experimentat. Produsul nu este destinat utilizării ca test diagnostic utilizat independent, pentru depistarea bolilor sau ca diagnostic companion. Prin urmare, o investigație de diagnosticare obținută cu acest produs se face întotdeauna împreună cu alte metode de diagnosticare. Abaterile de la protocoalele producătorului pot afecta robustețea și performanța testului și pot duce la rezultate înșelătoare. Hărțile sondei sunt create în conformitate cu scopul preconizat al produsului. Barele de culoare solidă nu înseamnă neapărat că sonda acoperă complet regiunea genomică indicată. Sunt indicate doar lacunele mai mari de 10 kb. Prin urmare, se recomandă prudență atunci când se interpretează rezultatele generate prin utilizarea off-label. Informații suplimentare sunt disponibile la cerere.

În calitate de producător și distribuitor IVD cu sediul în Germania, MetaSystems Probes respectă reglementările europene și germane în vigoare, care interzic orice declarație referitoare la interpretarea datelor legate de pacient, precum și recomandările de diagnostic și, respectiv, terapeutice.

Depozitare și manipulare

Sondele trebuie păstrate la întuneric, la -20 °C (±5 °C). S-a demonstrat că performanța sondei nu este afectată timp de până la 20 de cicluri de îngheț-dezgheț. Sondele sunt sensibile la lumină, prin urmare, expunerea la lumină trebuie limitată la minimum în timpul manipulării.

Expediere

Produsele fabricate de MetaSystems Probes sunt livrate la temperatura camerei.

Echipamente și materiale necesare, dar care nu sunt furnizate

- Baie de apă cu control precis al temperaturii
- Placă de încălzire, cu placă solidă și control precis al temperaturii
- Micropipete cu volume cuprinse între 1 µl și 1 ml, calibrate
- pH-metru, calibrat
- Congelator -20 °C (±5 °C)
- Cameră umidificată 37 °C (± 1 °C)
- Microscop de fluorescență cu filtre adecvate (a se vedea mai jos)
- Ulei de imersie, recomandat de producătorul microscopului (grad de fluorescență)
- Termometru
- DAPI/antifade
- Ciment de cauciuc
- Lamele pentru microscop
- Lamele de acoperire (sticlă): 22 mm x 22 mm și 24 mm x 32 mm
- Mănuși
- Borcane Coplin
- Forceps
- 20x SSC
- Tween-20
- Apă distilată
- Microcentrifugă
- Cronometru

Specificație fluorocromă

Marcarea	Excitare max.	Emisiune max.
Verde	505 nm	530 nm
Portocaliu	552 nm	576 nm

Recomandare pentru microscopul de fluorescență

- Iluminarea prin fluorescență: Sisteme adecvate de iluminare prin fluorescență cu halogenuri metalice sau cu LED-uri sau lămpi de iluminat convenționale cu mercur de 100 wați.
- Obiective adecvate pentru iluminarea epi-fluorescentă.
- Filtre de fluorescență: Pentru vizualizare/contorizare se utilizează un set de filtre multibandă adecvate. Pentru capturarea imaginilor sau pentru observarea canalelor de culoare individuale la microscop, se utilizează seturi adecvate de filtre trece-banda unice pentru fluorocromii respectivi (de exemplu, de la MetaSystems).

Principiul de testare

Hibridizarea in situ prin fluorescență (FISH) utilizează fragmente de ADN în care sunt încorporate nucleotide cuplate cu fluorofori pentru a detecta la un microscop cu fluorescență secvențe complementare de ADN în celule fixate. ADN-ul sondelor selectate și ADN-ul pacientului sunt denaturate, ceea ce înseamnă că cele două șiruri de ADN ale dublei helixuri sunt separate. În timpul renaturării ulterioare, sondele de ADN se hibridizează cu secvențele complementare ale ADN-ului pacientului.

Pregătirea probei

Observații generale

Produsul este conceput pentru a fi utilizat conform destinației specificate.
Celulele fixate în metanol/acid acetic se prepară din aspiratele din măduvă osoasă sau din sângele periferic. Mai multe detalii privind procedurile standard pot fi găsite în manualele și publicațiile de laborator (de exemplu, The AGT Cytogenetics Laboratory Manual, ediția a 4-a).

Stabilitatea lamelelor hibridizate

- Lamele FISH hibridizate pot fi analizate timp de cel puțin șase luni dacă sunt păstrate la întuneric la -20 °C (±5 °C).

Recomandări suplimentare privind procesul

- Se recomandă cu insistență utilizarea unui termometru calibrat pentru măsurarea temperaturilor soluțiilor, băilor de apă și incubatoarelor, deoarece aceste temperaturi sunt esențiale pentru performanța optimă a produsului.
- Verificați cu atenție temperatura soluțiilor preîncălzite.
- Verificați cu atenție valoarea pH-ului tuturor soluțiilor. Acesta trebuie să fie în intervalul 7,0 - 7,5 la temperatura camerei.
- Concentrațiile de tampoane (stringența), pH-ul și temperatura sunt importante, deoarece o stringență scăzută poate duce la legarea nespecifică a sondei, iar o stringență prea mare poate duce la reducerea intensității semnalului sau la dispariția semnalelor.
- Înainte de deschidere: se rotește scurt pentru a colecta sonda de pe fundul tubului.

Protocol FISH pentru sondele ADN MetaSystems

Pregătirea lamelor

1. Se depune proba celulară pe o lamă de microscop. Se lasă să se usuce la aer. În cazul în care lamele nu sunt utilizate în următoarele două zile, se păstrează la -20 °C (±5 °C).
2. Se aplică 10 µl de sondă.
3. Se acoperă cu o lamelă de acoperire de 22 mm x 22 mm.
4. Se etanșează cu ciment de cauciuc.

Denaturare

1. Denaturați simultan proba și sonda prin încălzirea lamei pe o placă încălzitoare la 75 °C (±1 °C) timp de 2 minute.

Hibridizare

1. Se incubează într-o cameră umidificată la 37 °C (± 1 °C) peste noapte.

Spălări după hibridizare

Soluții necesare

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

Procedura

1. Îndepărtați cu grijă lamele de acoperire și toate urmele de lipici.
2. Se spală lamelele în 0,4x SSC (pH 7,0) la 72 °C (±1 °C) timp de 2 minute.
3. Scurgeți lamele și spălați-le în 2x SSC, 0,05 % Tween-20 (pH 7,0) la temperatura camerei timp de 30 de secunde.
4. Clătiți scurt în apă distilată pentru a evita formarea de cristale și lăsați să se usuce la aer.

Contracolorare

Soluții necesare:

- DAPI/antifade (de exemplu, MetaSystems Probes DAPI/antifade, D-0902-500-DA)

Procedura:

1. Se aplică 10 µl de DAPI/antifade și se suprapune cu o lamelă de acoperire de 24 mm x 32 mm.
2. Se lasă să se pătrundă DAPI/antifade timp de 10 minute.
3. Se analizează la microscop.
4. Păstrați lamelele la -20 °C (±5 °C).

Rezultatele așteptate

Sunt prezentate doar cele mai frecvente constelații de semnale, pot fi observate și alte modele de semnale relevante.

Celula normală:
Două semnale de colocalizare/fuziune verde-portocaliu (2GO).



Celula aberantă (rezultate tipice):
Un semnal de colocalizare/fuziune verde-portocaliu (1GO), un semnal separat verde (1G) și un semnal separat portocaliu (1O), fiecare dintre acestea fiind rezultatul unei rupturi cromozomiale în locusul respectiv.



Performanță analitică

Datele privind performanța analitică au fost colectate folosind nuclei în interfază din culturi de limfocite stimulate cu PHA. Recoltarea celulelor a fost efectuată în conformitate cu standardele citogenetice. Echivalența rezultatelor între culturile de măduvă osoasă nestimulate și limfocitele stimulate cu PHA a fost asigurată printr-un studiu comparativ.

Specificitate analitică

Specificitatea se calculează ca procent de ținte corecte detectate din numărul total de ținte detectate.

Specificitatea analitică calculată este de 100 % după 20 de metafaze evaluate de la 5 bărbați diferiți cu cariotip normal.

Sensibilitate analitică

Sensibilitatea analitică este calculată ca procent de nuclei interfazici care prezintă modelul de semnal normal așteptat din numărul total de nuclei interfazici analizați. A fost analizat modelul de semnal a 400 de nuclee de la fiecare din 10 indivizi normali din punct de vedere cariotipic.

Gradul de abatere de la medie este reprezentat de abaterea standard relativă (% RSD).

Model	Sensibilitate	% RSD
2GO (normal)	98.6 %	0.9 %

Valoare limită (Cut-off)

Pragul cut-off pentru un test calitativ este pragul peste care rezultatul este considerat pozitiv și sub care rezultatul este considerat negativ.

Valoarea cut-off a fost calculată pe baza hibridizărilor de sonde pe nuclee în interfază de la 10 indivizi normali din punct de vedere cariotipic. Valorile cut-off se bazează pe 400 de nuclee evaluate fiecare.

Model	Cut-Off
1GO 1G 1O	5.1 %

Valoarea cut-off este informativă și depinde de mai mulți parametri de laborator. Prin urmare, pentru utilizarea în scop diagnostic, valorile cut-off trebuie să fie determinate individual de fiecare laborator.

Precizia (reproductibilitate/repetabilitate)

Reproductibilitatea este gradul de concordanță între rezultatele studiilor de sensibilitate analitică efectuate în condiții diferite (zi, lot și eșantion). Pentru fiecare condiție, s-au efectuat trei analize cu câte 100 de nuclee.

Reproductibilitatea este dată de gradul de abatere de la medie prin abaterea standard relativă (% RSD).

Condiții	Reproductibilitate % RSD
De la o zi la alta același lot și aceeași persoană în trei zile	0.6 %
Lot la lot aceeași persoană și aceeași zi cu trei loturi	0.6 %
Eșantion la eșantion același lot și aceeași zi cu trei indivizi	1.2 %

Repetabilitatea este gradul de concordanță între studiile efectuate în aceleași condiții. Nu s-au efectuat studii separate de repetabilitate, deoarece gradul de abatere de la medie în studiile de reproductibilitate în condiții diferite a fost determinat cu o abatere standard relativă ≤5 % (% RSD). Prin urmare, s-a concluzionat un grad de abatere de la medie în condiții egale cu ≤5 % abatere standard relativă (% RSD).

Performanță clinică

Literatură publicată

Afirmațiile privind performanța clinică a produsului în ceea ce privește scopul propus au fost susținute de literatura științifică relevantă pentru produs și pentru afecțiunea analizată cu ajutorul produsului.

- 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

Experiența publicată dobândită prin teste de diagnosticare de rutină

Datele din testele de diagnostic de rutină au fost obținute de la laboratoare de diagnostic europene și publicate pe site-ul MetaSystems Probes (a se vedea fișa tehnică de performanță respectivă din secțiunea de descărcare corespunzătoare pentru acest produs specific). Prezența markerului țintă în cazurile pozitive și absența în cazurile negative detectate prin FISH a fost confirmată prin tehnologii de referință (analiza benzilor cromozomiale). Coorta de testare include pacienți cu AML și CLL, confirmate sau suspectate. Specimenele au fost obținute din măduvă osoasă și sânge periferic.

Rearanjare	Nr. de cazuri	Sensibilitatea diagnosticului	Specificitatea diagnosticului
Rearanjamente *CBFB* la 16q22	969	100 %	99.8 %

Alte surse de date privind performanța clinică

Evaluarea datelor de validare a diagnosticului colectate în cadrul IVDD și clasificate ca alte surse de date de performanță clinică arată că XL CBFB a identificat corect toate cele 5 cazuri anormale analizate.

Procedura de control al calității

Înainte de utilizarea inițială a acestui produs în diagnosticare, trebuie să se verifice dacă funcționează conform așteptărilor. Trebuie luate în considerare ghidurile și recomandările pentru punerea în aplicare a noilor teste FISH în diagnosticare (de exemplu, CLSI Fluorescence In Situ Hybridization Methods for Clinical Laboratories; Approved Guideline - Second Edition).

Instrucțiuni de siguranță

Toate sondele produse de MetaSystems Probes sunt destinate exclusiv uzului profesional și trebuie utilizate de personal calificat și instruit. Pentru a asigura o funcționare sigură și rezultate reproductibile, vă rugăm să respectați avizele de siguranță și semnele de avertizare de mai jos.



PERICOL

Conține:	Formamidă
Mențiuni de pericol:	H360FD Poate afecta fertilitatea. Poate dăuna copilului nenăscut. H351 Susceptibil de a provoca cancer. H373 Poate provoca leziuni ale organelor în caz de expunere prelungită sau repetată.
Mențiuni de precauție:	P201 Obțineți instrucțiuni speciale înainte de utilizare. P260 Nu respirați praful/fumul/gazul/noxele/vaporii/spray. P280 Purtați mănuși de protecție/îmbrăcăminte de protecție. P308+ P313 DACĂ este expus sau îngrijorat: Solicitați sfatul/atenția unui medic. P501 Eliminați conținutul/recipientul în conformitate cu reglementările locale/regionale/naționale/internaționale.
Etichetare specială:	Restricționat pentru utilizatorii profesioniști.



ATENȚIE: Baie de apă încălzită și plăci de încălzire!

Pentru denaturare și hibridizare se folosesc băi de apă încălzite și plăci de încălzire cu temperaturi de >37 °C. Aveți grijă să nu intrați în contact direct cu suprafețele sau lichidele fierbinți. Purtați mănuși și un halat de laborator. În caz de contact cu pielea, răciți imediat cu apă rece.



ATENȚIE: Bună practică de laborator!

A se utiliza în conformitate cu principiile de bună practică de laborator.

Raportarea evenimentelor adverse

Orice incident grav care a avut loc în legătură cu dispozitivul se raportează producătorului și autorității competente din statul membru în care este stabilit utilizatorul și/sau pacientul.

Depanare

Problema	Cauza (cauzele) potențială (potențiale)	Soluție recomandată
La microscop nu se detectează niciun semnal FISH.	• Obturatorul de lumină reflectată este închis / glisorul de oprire în calea luminii.	• Deschideți obturatorul / deplasați glisorul de oprire în afara traiectoriei luminii.
	• Lampa fluorescentă este oprită.	• Porniți lampa fluorescentă.
	• În calea luminii se află un filtru de fluorescență greșit.	• Mutați filtrul corect în calea luminii.
	• Obiectivul este în afara poziției.	• Întoarceți obiectivul în calea luminii.
	• Fototubul se află în poziția camerei.	• Direcționați calea luminii către oculare.
Semnalele de hibridizare devin slabe după un timp.	• Uleiul de imersie a pătruns între lama de microscop și lamela de acoperire.	• Înlocuiți lamelele de acoperire și DAPI/antifade. Folosiți o lamelă de acoperire de 24 mm x 32 mm chiar dacă este hibridizată doar o regiune mică.
Semnale difuze.	• Pregătirea nu este iluminată în mod corespunzător.	• Verificați calea optică a microscopului. Reglați corect lumina UV. Verificați durata de viață a lămpii UV.
	• Planul de focalizare nu poate fi reglat corect.	• Utilizați suficient ulei de imersie. Nu amestecați uleiuri de imersie diferite. Utilizați ulei de imersie adecvat pentru fluorescență. • Stratul de antifade este prea gros pentru focalizare. Nu folosiți prea mult DAPI/antifade. Sunt suficiente 10 µl per lamă (cu lamelă de acoperire de 24 mm x 32 mm). • Utilizați lamele de acoperire adecvate.
Semnale slabe.	• Pregătirea lamelor este prea veche.	• Lamele pregătite nu trebuie să fie mai vechi de două săptămâni. Dacă lamelele nu sunt utilizate în această perioadă, păstrați-le la -20 °C (±5 °C).
	• Denaturarea nu este adecvată.	• Învechirea, coacerea sau fixarea suplimentară pot inhiba hibridizarea și nu sunt recomandate. • Se mărește temperatura de denaturare până la 80 °C sau se mărește timpul de denaturare până la 3 minute.
	• Pentru vizionare se utilizează un filtru trece-banda multiplu.	• Folosiți un filtru trece-banda unic dedicat.
Semnale aqua sau verzi slabe sau fundal cu grad ridicat de difuzie în canalul de culoare verde.	• Intensitatea DAPI este prea mare, rezultând o suprapunere cu filtrul AQUA sau filtrul VERDE.	• Folosiți DAPI/antifade de concentrație scăzută.
	• Valoarea pH-ului soluțiilor de spălare este prea mică.	• Asigurați-vă că valoarea pH-ului soluțiilor se situează între 7,0 și 7,5. Unii fluorofori verzi sunt foarte sensibili la un pH mai mic de 7.
Fond nespecific ridicat.	• Proteinele citoplasmatice rămase din celule pot afecta hibridizarea.	• Pretratați lamelele cu pepsină.
Dacă măsurile recomandate nu rezolvă problema sau dacă problema dvs. nu este listată, vă rugăm să contactați MetaSystems Probes.		

Asistență pentru clienți

Vă rugăm să contactați MetaSystems Probes GmbH (detalii de contact, a se vedea mai jos) sau distribuitorul nostru autorizat din țara dumneavoastră.

MetaSystems Probes GmbH
1. Industriestrasse 7
68804 Altlussheim
Germania

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

MetaSystems Probes renunță la orice interes de proprietate asupra mărcilor și numelor altora.

Pentru un *rezumat privind siguranța și performanța,* vizitați site-ul https://ec.europa.eu/tools/eudamed/#/screen/home sau adresați-vă la info@metasystems-probes.com.

Simboluri utilizate

Simbol	Descriere
IVD	Indică un *dispozitiv medical* care este destinat utilizării ca *dispozitiv medical de* diagnostic in vitro.
CE	Marca de conformitate care indică faptul că un dispozitiv este în conformitate cu cerințele de reglementare aplicabile în Uniunea Europeană.
	Indică *producătorul dispozitivului medical.*
⚠	Indică faptul că este necesară prudență la operarea dispozitivului sau a comenzii în apropierea locului în care este plasat *simbolul* sau că situația actuală necesită conștientizarea operatorului sau intervenția acestuia pentru a evita consecințele nedorite.
	Indică necesitatea ca utilizatorul să consulte *instrucțiunile de utilizare*.

Revizuirea documentului

Revizuire	Data emiterii	Indicație de schimbare
RO-CE-IVD-RevB261109-250812v10.2	11.11.2026	IFU actualizat în conformitate cu REGULAMENTUL (UE) 2017/746 privind dispozitivele medicale pentru diagnostic in vitro. Actualizarea nu afectează în mod direct caracteristicile dispozitivului și nu are impact asupra compoziției sau ingredientelor produselor noastre. De asemenea, nu influențează modul în care sunt aplicate produsele noastre, dar declanșează modificări ale informațiilor furnizate împreună cu produsul ca etichete, destinație și instrucțiuni de utilizare.