



CE 2797

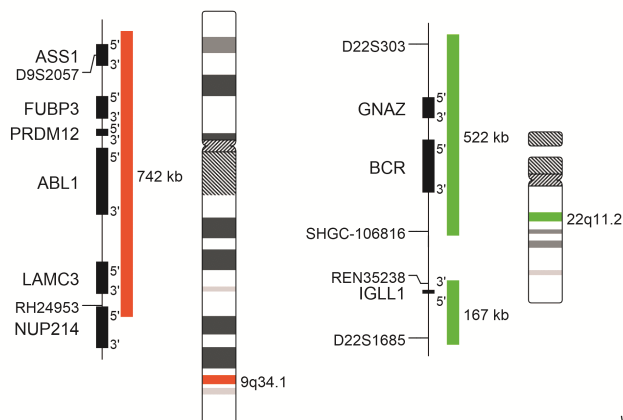
Návod na použitie

Len na profesionálne použitie



Ďalšie informácie a iné jazyky sú k dispozícii na adrese www.metasystems-probes.com
e-mail: info@metasystems-probes.com

Produkt	Značenie	Referenčné číslo	UDI-DI	Veľkosť balenia
XL BCR/ABL1 plus	zelená/oranžová	D-5052-100-OG	04251315812093	100 µl



v10.2

Zamýšľaný účel

Sonda XL BCR/ABL1 plus dual-fusion je kvalitatívny, neautomatizovaný test na detekciu *BCR::ABL1*-prestavby, t(9;22)(q34.1;q11.2) pomocou fluorescenčnej in situ hybridizácie (FISH). Produkt je určený ako diagnostická pomôcka a pomáha pri monitorovaní ochorenia. Testovanú populáciu tvoria pacienti s potvrdenou alebo suspektou akútnou lymfoblastickou leukémiou (ALL), akútnou myeloidnou leukémiou (AML) a chronickou myeloidnou leukémiou a myeloproliferatívnymi neopláziami (CML/MPN). Hybridizácia sa vykonáva na bunkách fixovaných metanolom/kyselinou octovou získaných z kostnej drene alebo periférnej krvi.

Popis produktu

Sonda XL BCR/ABL1 plus dual-fusion pozostáva zo sondy značenej oranžovou farbou, ktorá hybridizuje s oblasťou génu *ABL1* na 9q34.1, a zo sondy značenej zelenou farbou, ktorá hybridizuje s oblasťou génu *BCR* na 22q11.2.

Známa krížová reaktivita

Nie sú známe žiadne krížové hybridizácie.

Poskytnuté materiály

100 µl (10 testov) XL BCR/ABL1 plus, sonda je rozpustená v hybridizačnom roztoku (> 50 % v/v formamid, < 30 % w/v dextrán sulfát a < 2x SSC (fyziologický roztok - citrát sodný)) a pripravená na použitie.

Obmedzenia

Analýzu, interpretáciu údajov a podávanie správ o diagnostických nálezoch získaných metódou FISH by mal vykonávať kvalifikovaný a skúsený personál v súlade s odbornými normami a príslušnými usmerneniami. Produkt nie je určený na použitie ako samostatná diagnostika, skríning ochorenia alebo ako sprievodná diagnostika. Diagnostické vyšetrenie získané týmto produktom sa preto vždy vykonáva v spojení s inými diagnostickými metódami. Odchýlky od protokolov výrobcu môžu ovplyvniť spoľahlivosť a výkonnosť testu a môžu viesť k zavádzajúcim zisteniam. Mapy sond sú vytvorené v súlade s určeným účelom výrobu. Plné farebné pruhy nemusia nevyhnutne znamenať, že sonda úplne pokrýva uvedenú genomickú oblasť. Zobrazené sú len medzery väčšie ako 10 kb. Preto sa odporúča opatrnosť pri interpretácii výsledkov vytvorených prostredníctvom použitia mimo schválené pokyny (off-label). Ďalšie informácie sú k dispozícii na požiadanie.

Ako nemecký výrobca a distribútor IVD sa spoločnosť MetaSystems Probes riadi platnými európskymi a nemeckými predpismi, ktoré zakazujú akékoľvek vyhlásenia týkajúce sa interpretácie údajov o pacientoch, ako aj diagnostických a terapeutických odporúčaní.

Skladovanie a manipulácia

Sondy by sa mali skladovať v tme pri teplote -20 °C (±5 °C). Bolo preukázané, že spoľahlivosť sondy nie je ovplyvnená až 20 cyklami zmrazovania a rozmrazovania. Sondy sú citlivé na svetlo, preto by sa počas manipulácie malo obmedziť vystavenie svetlu na minimum.

Preprava

Výrobky vyrobené spoločnosťou MetaSystems Probes sa dodávajú pri izbovej teplote.

Potrebné, ale nedodané vybavenie a materiály

- Vodný kúpeľ s presnou reguláciou teploty
- Vyhrievana platnička s pevnou platňou a presnou reguláciou teploty
- Mikropipety s objemom od 1 µl do 1 ml, kalibrované
- pH meter, kalibrovaný
- Mraznička -20 °C (±5 °C)
- Zvlhčovaná komora 37 °C (± 1 °C)
- Fluorescenčný mikroskop s vhodnými filtrami (pozri nižšie)
- Imerzný olej odporúčaný výrobcom mikroskopu (fluorescenčný)
- Teplomer
- DAPI/antifade
- Pryžové lepidlo
- Mikroskopické sklička
- Krycie sklička (sklo): 22 mm x 22 mm a 24 mm x 32 mm
- Rukavice
- Sklenice Coplin
- Pinzeta
- 20x SSC
- Tween-20
- Destilovaná voda
- Mikrocentrifúga
- Časovač

Špecifikácia fluorochrómu

Značenie	Excitácia max.	Emisie max.
Zelená	505 nm	530 nm
Oranžová	552 nm	576 nm

Odporúčanie pre fluorescenčný mikroskop

- Fluorescenčné osvetlenie: Vhodné halogenidové alebo LED fluorescenčné osvetľovacie systémy alebo bežné 100-wattové ortuťové lampy.
- Objektívy vhodné pre epi-fluorescenčné osvetlenie.
- Fluorescenčné filtre: Pre zobrazenie/počítanie použite vhodnú sadu viacpásmových filtrov. Na snímanie obrázkov alebo pozorovanie jednotlivých farebných kanálov na mikroskope použite vhodné sady jednopásmových filtrov pre príslušné fluorochrómy (napr. od MetaSystems).

Princíp testu

Fluorescenčná in situ hybridizácia (FISH) na detekciu komplementárnych sekvencií DNA vo fixovaných bunkách pod fluorescenčným mikroskopom využíva fragmenty DNA, do ktorých sú začlenené nukleotidy s fluorofórom. DNA vybraných sond a DNA pacienta sú denaturované, čo znamená, že dve vlákna DNA dvojzávitnice sú oddelené. Počas následnej renaturácie sondy DNA hybridizujú s komplementárnymi sekvenciami DNA pacienta.

Príprava vzorky

Všeobecné pripomienky

Výrobok je určený na použitie podľa určeného účelu.

Nie všetky uvedené metódy prípravy musia byť pre danú sondu relevantné. Bunkové suspenzie sa pripravujú z nestimulovaných krátkodobých kultúr aspirátov kostnej drene, celej krvi alebo uvoľnených jednotlivých buniek z postihnutých lymfatických uzlín po dôkladnom rozomletí uzlinového tkaniva. V prípade mnohopočetného myelómu sa odporúča obohatiť CD138+ plazmatické bunky (napr. magnetické triedenie buniek) alebo ich identifikovať in situ pomocou vhodnej fluorescenčne značenej protilátky (clg-FISH).

Príprava buniek sa zvyčajne spracúva podľa protokolov určených na cytogenetickú analýzu vrátane zastavenia bunkového cyklu v metafáze, hypotonického ošetrenia a fixácie metanolom a kyselinou octovou. Takto fixované bunkové suspenzie sa pred hybridizáciou nakvapkajú na čisté sklička. Vzorky by sa mali pripraviť podľa štandardov cytogenetických postupov (napr. podľa The AGT Cytogenetics Laboratory Manual, 4. vydanie, pre lymfóm pozri aj Campbell et al (2015) Pathology 37:493-507 a Ross (2004) Curr Diagn Pathol 10:345-350, pre obohatenie CD138+ buniek pozri aj Cumova et al (2010) Int J Hematol 92:314-319 a pre clg-FISH pozri aj Gole et al (2012) Blood 120:4792).

Stabilita hybridizovaných preparátov

- Hybridizované preparáty FISH možno analyzovať najmenej šesť mesiacov, ak sa skladujú v tme pri teplote -20 °C (±5 °C).

Ďalšie odporúčania týkajúce sa postupu

- Na meranie teplôt roztokov, vodných kúpeľov a inkubátorov sa dôrazne odporúča používať kalibrovaný teplomer, pretože tieto teploty sú rozhodujúce pre optimálny výkon výrobu.
- Starostlivo skontrolujte teplotu predhriatych roztokov.
- Starostlivo skontrolujte hodnotu pH všetkých roztokov. Pri izbovej teplote musí byť v rozmedzí 7,0 - 7,5.
- Dôležité sú teplota a koncentrácie pufrov (stringencia) a pH, pretože nízka stringencia môže viesť k nešpecifickej väzbe sondy

a príliš vysoká stringencia môže viesť k zníženiu intenzity signálu alebo k jeho vymiznutiu.

- Pred otvorením: krátko stočte, aby ste zhromáždili sondu na dne skúmavky.

Protokol FISH pre DNA sondy MetaSystems

Príprava preparátov

1. Kvapnite vzorku buniek na mikroskopické skličko. Nechajte uschnúť na vzduchu. Ak sa sklička nepoužijú v najbližších dňoch, uchovávajte ich pri teplote -20 °C (±5 °C).
2. Naneste 10 µl sondy.
3. Prikryte krycím skličkom 22 mm x 22 mm.
4. Utesnite prímocou pryžového lepidla.

Denaturácia

1. Vzorku a sondu súčasne denaturujte zahrievaním sklička na horúcej platni pri teplote 75 °C (±1 °C) počas 2 minút.

Hybridizácia

1. Inkubujte vo zvlhčovacej komore pri 37 °C (±1 °C) cez noc.

Odmývanie po hybridizácii

Požadované roztoky

- 0,4x SSC (pH 7,0 - 7,5) pri 72 °C (±1 °C)
- 2x SSC, 0,05 % Tween-20 (pH 7,0) pri izbovej teplote

Postup

1. Opatrne odstráňte krycie skličko a všetky stopy lepidla.
2. Premyte skličko v 0,4x SSC (pH 7,0) pri teplote 72 °C (±1 °C) počas 2 min.
3. Skličko nechajte odkapať a premyte ho v 2x SSC, 0,05 % Tween-20 (pH 7,0) pri izbovej teplote počas 30 sekúnd.
4. Krátko opláchnite v destilovanej vode, aby ste zabránili tvorbe kryštálov, a nechajte oschnúť na vzduchu.

Farbenie jadier

Potrebné roztoky:

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

Postup:

1. Naneste 10 µl DAPI/antifade a prekryte krycím skličkom s rozmermi 24 x 32 mm.
2. Inkubujte 10 min.
3. Pokračujte v mikroskopovaní a analýze.
4. Sklička skladujte pri teplote -20 °C (±5 °C).

Očakávané výsledky

Zobrazené sú len najčastejšie sa vyskytujúce konštelácie signálov, je možné pozorovať aj iné relevantné vzory signálov.

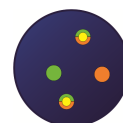
Normálna bunka:

Dva zelené (2G) a dva oranžové (2O) signály.



Aberantná bunka (typické výsledky):

Jeden zelený (1G), jeden oranžový (1O) a dva zeleno-oranžové kolokalizačné/fúzne signály (2GO), ktoré sú výsledkom recipročnej translokácie medzi príslušnými lokusmi.



Analytický hodnotenie

Údaje o analytickom hodnotení boli získané pomocou interfáznych jadier z lymfocytových kultúr stimulovaných PHA. Zber buniek sa vykonával podľa cytogenetických noriem. Porovnávacou štúdiou sa zabezpečila rovnocennosť výsledkov medzi nestimulovanými kultúrami kostnej drene a lymfocytmi stimulovanými PHA.

Analytická špecifickosť

Špecifickosť sa vypočíta ako percento správnych objektov z celkového počtu zistených objektov.

Vypočítaná analytická špecifickosť je 100 % po 20 hodnotených metafázach od 5 rôznych karyotypicky normálnych mužov.

Analytická citlivosť

Analytická citlivosť sa vypočíta ako percento interfáznych jadier, ktoré majú očakávané normálne usporiadanie signálov, z celkového počtu analyzovaných interfáznych jadier. Bolo analyzované usporiadanie signálov v 400 jadrách od každého z 10 karyotypicky normálnych jedincov.

Stupeň odchýlky od priemeru sa vyjadruje relatívnou štandardnou odchýlkou (% RSD).

Vzor	Citlivosť	% RSD
2G 2O (normálne)	95.7 %	1.5 %

Cut-Off

Hraničná hodnota (cut-off) pre kvalitatívny test je hranica, nad ktorou sa výsledok považuje za pozitívny a pod ktorou sa výsledok považuje za negatívny.

Hraničná hodnota bola vypočítaná na základe hybridizácie sondy na interfáznych jadrách 10 karyotypicky normálnych jedincov. Hodnoty cut-off sú založené na 400 hodnotených jadrách od každého.

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

Hraničná hodnota je informatívna a závisí od rozličných parametrov súvisiacich s laboratóriom. Preto sa na diagnostické účely musia hraničné hodnoty stanoviť individuálne v každom laboratóriu.

Presnosť (reprodukovateľnosť/opakovateľnosť)

Reprodukovateľnosť je stupeň zhody medzi výsledkami štúdií analytickej citlivosti vykonaných za rôznych podmienok (deň, šarža a vzorka). Pre každú podmienku sa vykonali tri analýzy so 100 jadrami.

Reprodukovateľnosť sa udáva ako stupeň odchýlky od priemeru pomocou relatívnej štandardnej odchýlky (% RSD).

Podmienky	Reprodukovateľnosť % RSD
Day-to-Day tá istá dávka a tá istá osoba v troch dňoch	0.6 %
Lot-to-Lot ten istý jednotlivец a deň s tromi šarzami	1.6 %
Sample-to-sample rovnaká dávka a deň s tromi jedincami	2.8 %

Opakovateľnosť je miera zhody medzi štúdiami vykonanými za rovnakých podmienok. Samostatné štúdie opakovateľnosti sa nevykonávali, pretože stupeň odchýlky od priemeru v štúdiách reprodukovateľnosti za rôznych podmienok sa stanovil s relatívnou štandardnou odchýlkou ≤ 5 % (% RSD). Preto sa vyvodil záver o stupni odchýlky od priemeru za rovnakých podmienok s relatívnou štandardnou odchýlkou ≤ 5 % (% RSD).

Klinické hodnotenie

Publikovaná literatúra

Tvrdenia o klinickom výkone výrobku vzhľadom na zamýšľaný účel boli podložené vedeckou literatúrou relevantnou pre výrobok a stav, ktorý sa s výrobkom analyzuje.

- 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

Publikované skúsenosti získané rutinným diagnostickým testovaním

Údaje z rutinného diagnostického testovania boli získané z európskych diagnostických laboratórií a uverejnené na webovej stránke MetaSystems Probes (viz.príslušný bezpečnostný list v príslušnej časti na stiahnutie pre tento konkrétny produkt). Prítomnosť cieľového markera v pozitívnych prípadoch a neprítomnosť v negatívnych prípadoch zistených metódou FISH bola potvrdená referenčnými technológiami (analýza chromozómového pruhovania a PCR s reverznou transkripciou). Testovaná kohorta zahŕňa pacientov s potvrdenou alebo suspektou ALL, AML, CML/MPN, MDS a HES. Vzorky boli získané z kostnej drene a periférnej krvi.

Preusporiadanie	Počet prípadov	Diagnostická citlivosť	Diagnostická špecifickosť
BCR::ABL1- prestavby, t(9;22) (q34.1; q11.2)	14134	99.3 %*	100 %

*31 out of 14134 cases analyzed showed a negative FISH result but chromosome banding analysis revealed a t(9;22)(q34;q11). These cases were classified as false negative for FISH. For 21 of these cases RT-PCR results were available showing that the number of positive cells was below the detection limit for FISH.

Iné zdroje údajov o klinickom hodnotení

Z vyhodnotenia diagnostických validačných údajov zozbieraných v rámci IVDD a klasifikovaných ako iné zdroje údajov o klinickom výkone vyplýva, že XL BCR/ABL1 plus správne identifikoval všetkých 14 analyzovaných aberantných prípadov.

Postup kontroly kvality

Pred prvým použitím tohto výrobku v diagnostike by sa malo overiť, či funguje podľa očakávania. Je potrebné zohľadniť usmernenia a odporúčania pre implementáciu nových testov FISH v diagnostike (napr. CLSI Fluorescence In Situ Hybridization Methods for Clinical Laboratories; Approved Guideline - Second Edition).

Bezpečnostné pokyny

Všetky sondy vyrobené spoločnosťou MetaSystems Probes sú určené len na profesionálne použitie a mali by ich používať kvalifikovaní a vyškolení pracovníci. Na zabezpečenie bezpečnej prevádzky a reprodukovateľných výsledkov dodržiavajte bezpečnostné upozornenia a výstražné značky uvedené nižšie.

	
NEBEZPEČENSTVO	
Obsahuje:	Formamid
Výstražné upozornenia:	H360FD Môže poškodiť plodnosť. Môže poškodiť nenarodené dieťa. H351 Podozrenie, že spôsobuje rakovinu. H373 Môže spôsobiť poškodenie orgánov pri dlhodobej alebo opakovanej expozícii.
Bezpečnostné upozornenia:	P201 Pred použitím si vyžiadajte osobitné pokyny. P260 Nevdychujte prach/dym/plyn/hmlu/výpary/striekanie. P280 Noste ochranné rukavice/ochranný odev. P308+ P313 Ak ste vystavený alebo sa vás to týká: Vyhľadajte lekársku pomoc/opatrenie. P501 Zneškodnite obsah/kontajner v súlade s miestnymi/regionálnymi/národnými/medzinárodnými predpismi.
Špeciálne označovanie:	Obmedzené na profesionálnych používateľov.
	POZOR: Horúci vodný kúpeľ a vyhrievané platničky! Na denaturáciu a hybridizáciu sa používajú horúce vodné kúpele a vyhrievané platničky s teplotou >37 °C. Dávajte pozor, aby ste sa nedostali do priameho kontaktu s horúcimi povrchmi alebo kvapalinami. Noste rukavice a laboratórny plášť. V prípade kontaktu s pokožkou ju okamžite ochladte studenou vodou.
	POZOR: Správna laboratórna prax! Používajte v súlade so zásadami správnej laboratórnej praxe.

Hlásenie nežiaducich udalostí

Každý závažný incident, ktorý sa vyskytol v súvislosti s pomôckou, sa oznámi výrobcovi a príslušnému orgánu členského štátu, v ktorom je používateľ a/alebo pacient evidovaný.

Riešenie problémov

Problém	Potenciálna príčina (príčiny)	Odporúčané riešenie
V mikroskope sa nezistia žiadne signály FISH.	- Uzávierka odrazeného svetla zatvorená / posuvník stojí v dráhe svetla. - Zdroj svetla je vypnutý. - V ceste svetla je nesprávny fluorescenčný filter. - Objektív je mimo správnu pozíciu. - Fototubus je v polohe fotoaparátu.	- Otvorte uzávierku / posuňte jazdec mimo dráhy svetla. - Zapnite svetlo. - Presuňte správny filter do dráhy svetla. - Otočte objektív do dráhy svetla. - Presmerujte dráhu svetla do okuláru.
Hybridizačné signály po čase zoslabnú.	Imerzný olej prenikol medzi sklíčko a krycie sklo.	Vymeňte krycie sklíčko a DAPI/antifade. Použite krycie sklíčko s rozmermi 24 mm x 32 mm, aj keď sa hybridizuje len malá oblasť.
Rozptýlené signály.	- Preparát nie je dostatočne osvetlený. - Rovina zaostrenia sa nedá správne nastaviť.	- Skontrolujte optickú dráhu mikroskopu. Správne nastavte UV svetlo. Skontrolujte životnosť UV lampy. - Používajte dostatočné množstvo imerzného oleja. Nemiešajte rôzne imerzné oleje. Používajte imerzný olej vhodný pre fluorescenciu. - Vrstva proti vyblednutiu (DAPI/antifade) je príliš silná na zaostrenie. Nepoužívajte príliš veľa DAPI/antifade. Stačí 10 µl na sklíčko (24 mm x 32 mm krycieho skla). - Použite vhodné krycie sklíčka.
Slabé signály.	- Preparáty sú príliš staré. - Denaturácia nie je primeraná. - Na zobrazenie sa používa viacpásmový filter.	- Preparáty by nemali byť staršie ako dva týždne. Ak sa preparáty v tomto období nepoužijú, skladujte ich pri teplote -20 °C (±5 °C). - zostaršenie, zapečenie alebo ďalšia fixácia môžu inhibovať hybridizáciu a neodporúčajú sa. - Zvýšte teplotu denaturácie na 80 °C alebo predĺžte čas denaturácie na 3 min. - Použite špecializovaný jednopásmový filter.
Slabé modré alebo zelené signály alebo vysoko difúzne pozadie v zelenom farebnom kanáli.	- Intenzita DAPI je príliš vysoká, čo vedie k presväcovaniu na filteri AQUA alebo ZELENÁ filteri. - Hodnota pH premývacích roztokov je príliš nízka.	- Použite DAPI/antifade s nízkou koncentráciou. - Uistite sa, že hodnota pH roztokov je medzi 7,0 a 7,5. Niektoré zelené fluorofóry sú veľmi citlivé na pH nižšie ako 7.
Vysoké nešpecifické pozadie.	Zvyšné cytoplazmatické proteíny buniek môžu narušiť hybridizáciu.	Predbežne ošetríte preparáty pepsínom (pred hybridizáciou).

Ak odporúčané opatrenia problém nevyriešia alebo váš problém nie je uvedený v zozname, kontaktujte spoločnosť MetaSystems Probes.

Podpora zákazníkov

Kontaktujte spoločnosť MetaSystems Probes GmbH (kontaktné údaje nájdete nižšie) alebo nášho autorizovaného distribútora vo vašej krajine.



MetaSystems Probes GmbH
1. Industriestrasse 7
68804 Altlußheim
Nemecko

Tel: +49 (0)6205 292760

Fax: +49 (0)6205 2927629

e-mail: info@metasystems-probes.com

webová stránka: www.metasystems-probes.com

Spoločnosť MetaSystems Probes sa zrieka akéhokoľvek vlastného záujmu na značkách a názvoch iných osôb.

Prehľad bezpečnosti a výkonnosti nájdete na webovej stránke <https://ec.europa.eu/tools/eudamed/#/screen/home> alebo sa informujte na adrese info@metasystems-probes.com.

Použitie symboly

Symbol	Popis
	Označuje zdravotnícku pomôcku, ktorá je určená na použitie ako diagnostická zdravotnícka pomôcka in vitro.
	Značka zhody, ktorá označuje, že pomôcka je v súlade s platnými regulačnými požiadavkami v Európskej únii.
	Označuje výrobcu zdravotníckej pomôcky.
	Označuje, že pri obsluhu zariadenia alebo ovládacieho prvku v blízkosti miesta, kde je symbol umiestnený, je potrebná opatrnosť alebo že aktuálna situácia si vyžaduje informovanosť obsluhy alebo zásah obsluhy, aby sa zabránilo nežiaducim následkom.
	Označuje, že je potrebné, aby si používateľ prečítal návod na použitie.

Revízia dokumentu

Revízia	Dátum vydania	Indikácia zmeny
SK-CE-IVD-RevA250321-250324v10.2	24.03.2025	Aktualizované IFU podľa NARIADENIA (EÚ) 2017/746 o diagnostických zdravotníckych pomôckach in vitro. Aktualizácia nemá priamy vplyv na vlastnosti pomôcky a nemá vplyv na zloženie alebo zložky našich výrobkov. Nemá vplyv ani na spôsob aplikácie našich výrobkov, ale vyvoláva zmeny informácií poskytovaných spolu s výrobkom ako označenie, účel použitia a návod na použitie.