



A Sysmex Group Company



Návod k použití (IFU)

REF: CE-LPH 022-S / CE-LPH 022

CBFβ (CBFB)/MYH11 Translocation, Dual Fusion Probe



POUZE K PROFESIONÁLNÍMU POUŽITÍ



ogt.com/IFU

Další informace a více jazyků k dispozici na ogt.com/IFU

Zamýšlený účel

CytoCell® CBFβ (CBFB)/MYH11 Translocation, Dual Fusion probe (translokační, duální fúzní sonda) je kvalitativní, neautomatizovaný, fluorescenční *in situ* hybridizační (FISH) test používaný k detekci chromozomálních přeskupení mezi oblastí 16p13.1 na chromozomu 16 a oblastí 16q22 na chromozomu 16 v hematologicky získaných buněčných suspenzích fixovaných v Carnoyově roztoku (3 : 1 methanol / kyselina octová) od pacientů s potvrzenou nebo předpokládanou akutní myeloidní leukémií (AML).

Indikace k použití

Tento prostředek byl vytvořen jako doplněk k dalším klinickým a histopatologickým testům v rámci uznávaných diagnostických postupů a postupů klinické péče v případech, kdy by znalost stavu translokace *CBFB::MYH11* byla důležitá pro klinickou léčbu.

Omezení

Tento prostředek je navržen tak, aby detekoval přeskupení s body zlomu v oblasti pokryté červenými a zelenými kopiemi v této sadě sond, což zahrnuje oblasti *CBFB* a *MYH11*. Body zlomu mimo oblast nebo variantní přeskupení, plně obsažená v této oblasti, nemusí být tímto prostředkem detekována.

Tento prostředek není určen k použití v rámci samostatné diagnostiky, doprovodné diagnostiky, k prenatalnímu testování, skrínungu populace, testování přímo u pacientů ani k provádění autotestování.

Tento prostředek nebyl validován pro typy vzorků, chorob nebo účely jiné, než ty, které jsou uvedeny v zamýšleném účelu.

Je koncipován jako doplněk dalších diagnostických laboratorních testů. Terapeutické postupy nesmí být zahajovány pouze na základě výsledků testů FISH.

Hlášení a interpretace výsledků FISH musejí být prováděny kvalifikovanými pracovníky v souladu s profesionálními standardy praxe a měly by zohledňovat další relevantní výsledky testů, a také klinické a diagnostické informace.

Tento prostředek je určen výhradně k laboratornímu profesionálnímu použití.

Nedodržení protokolu může ovlivnit funkci a vést k falešně pozitivním/negativním výsledkům.

Principy testu

Fluorescenční *in situ* hybridizace (FISH) je technika umožňující detekovat sekvence DNA na metafázních chromozomech nebo v interfázních jádrech z fixovaných cytogenetických vzorků. Tato technika využívá DNA sondy, které hybridizují na celé chromozomy nebo na jednotlivé jedinečné sekvence a které slouží jako důležitý doplněk cytogenetické analýzy pomocí G-pruhování. Tuto techniku lze nyní aplikovat jako základní vyšetřovací nástroj při prenatalním a hematologickém vyšetření a při chromozomální analýze solidních nádorů. Po fixování a denaturaci je cílová DNA k dispozici pro reasociaci na podobně denaturovanou, fluorescenčně označenou sondu DNA, která má komplementární sekvenci. Po hybridizaci se nevázaná a nespecificky vázaná DNA sonda odstraní

a DNA se barevně označí za účelem vizualizace. Fluorescenční mikroskopie potom umožňuje vizualizaci hybridizované sondy na cílovém materiálu.

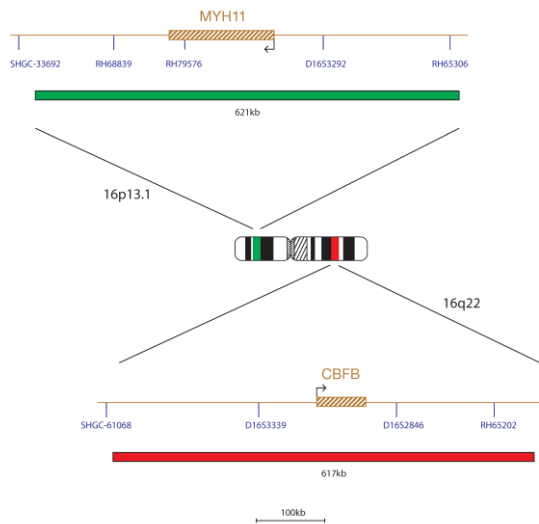
Informace o sondě

Gen *CBFB* (podjednotka beta faktoru vázajícího jádro) se nachází na 16q22, zatímco gen *MYH11* (těžký řetězec 11 myosinu) se nachází na 16p13.1. Inverze inv(16)(p13.1q22) a translokace t(16;16)(p13.1;q22) vedou ke vzniku fúzního genu *CBFB::MYH11*. Akutní myeloidní leukémie s fúzí *CBFB::MYH11* je uznávaným onemocněním podle klasifikace¹ Světové zdravotnické organizace (WHO). Tento typ AML se vyskytuje v 5–8 % případů u mladších dospělých pacientů a vyskyt se snižuje u starších dospělých¹. inv(16)(p13.1q22) je nejběžnější cytogenetickou změnou detekovanou u ~95 % pacientů¹ s *CBFB::MYH11*. Prognóza AML s *CBFB::MYH11* je příznivá, s mírou dlouhodobého přežití ~50 % u dospělých^{1,2}.

Parametry sondy

CBFB, 16q22, červená
MYH11, 16p13.1, zelená

CMP-H077 v005.00



Červeně značená sonda CBFB pokrývá oblast o délce 617 kb na 16q22 a zahrnuje gen *CBFB*. Zeleně značená sonda MYH11 pokrývá oblast o délce 621 kb na 16p13.1 a zahrnuje gen *MYH11*.

Dodaný materiál

Sonda: 50 µl v jedné lahvičce (5 testů) nebo 100 µl v jedné lahvičce (10 testů)
Sondy se dodávají předem smíchané v hybridizačním roztoku (< 65 % formamid; < 20 mg dextran sulfátu; < 10 % 20x solného roztoku citrátu sodného (SSC)) a jsou připraveny k použití.

Kontrastní barvivo: 150 µl v jedné lahvičce (15 testů)

Kontrastním barvivem je DAPI Antifade ES (0,125 µg/ml DAPI (4,6-diamidino-2-fenylinol) v montážním médiu na bázi glycerolu).

Varování a bezpečnostní pokyny

1. K diagnostickému použití *in vitro*. Výhradně k laboratornímu profesionálnímu použití.
2. Směsi v sondách obsahují formamid, což je teratogen; nevedchujte výpary a zamezte kontaktu s pokožkou. Zacházejte s nimi opatrně; noste rukavice a laboratorní plášť.
3. S DAPI zacházejte opatrně; noste rukavice a laboratorní plášť.
4. Jsou-li lahvičky poškozeny nebo je obsah lahvičky jakkoli znehodnocen, nepoužívejte je.
5. Při výběru bezpečné likvidace tohoto produktu se řiďte místními předpisy pro likvidaci ve vaší lokalitě spolu s doporučeními uvedenými v bezpečnostním listu. To platí i pro poškozený obsah testovací sady.
6. Všechny použité reagentie a další kontaminované materiály na jedno použití zlikvidujte dle postupů pro infekční nebo potenciálně infekční odpad. Každá laboratoř odpovídá za nakládání s pevným a kapalným odpadem podle jeho povahy a stupně nebezpečnosti a za jeho zpracování a likvidaci (nebo za zajištění jeho zpracování a likvidace) v souladu s platnými předpisy.
7. Pracovníci musí být schopni rozlišit červenou, modrou a zelenou barvu.
8. Nedodržení předepsaného protokolu a reagentií může ovlivnit funkci a vést k falešně pozitivním/negativním výsledkům.
9. Sonda se nesmí fedit ani míchat s jinými sondami.
10. Není-li během kroku pre-denaturace v rámci protokolu použito 10 µl sondy, může to nepříznivě ovlivnit funkci a vést k falešně pozitivním/negativním výsledkům.
11. Všechny produkty musí být před použitím validovány.
12. Interní kontroly musí být prováděny pomocí nedotčených buněčných populací v testovacích vzorcích.

Definice teploty

- -20 °C / zmražený / v mrazáku: -25 °C až -15 °C
- 37 °C: +37 °C ± 1 °C
- 72 °C: +72 °C ± 1 °C
- 75 °C: +75 °C ± 1 °C
- Pokojová teplota (RT): +15 °C až +25 °C

Uchovávání a manipulace



Sadu je třeba uchovávat v mrazáku při teplotách -25 °C až -15 °C až do data expirace uvedeného na štítku sady. Sonda a lahvičky s kontrastními barvivy musí být uloženy v temnu.



Sonda FISH, kontrastní barvivo DAPI Antifade ES a hybridizační roztok zůstávají při běžném používání stabilní po celou dobu cyklů zmrazování a rozmrazování (přičemž jeden cyklus představuje vyjmutí lahvičky z mrazničky a její vložení zpět) – 5 cyklů pro 50µl (5 testů) lahvičku sondy FISH, 10 cyklů pro 100µl (10 testů) lahvičku sondy FISH a 15 cyklů pro 150µl

(15 testů) lahvičku kontrastního barviva. Je třeba minimalizovat vystavení světlu a pokud možno se mu zcela vyhnout. Složky skladujte v dodané nádobě odolné vůči působení světla. Složky použité a skladované za jiných podmínek, než jaké jsou uvedeny na etiketě, nemusí fungovat dle očekávání a mohou nepříznivě ovlivnit výsledky testu. Je třeba vynaložit veškeré úsilí na omezení expozice světlu a teplotním změnám.

Potřebné vybavení a materiály, které nejsou součástí dodávky

Je nutné používat kalibrovaná zařízení:

1. Varná deska (s pevnou plotnou a přesným ovládním teploty do 80 °C)
2. Kalibrované mikropipety s variabilním objemem a špičkami v rozsahu od 1 µl do 200 µl
3. Vodní lázeň s přesným ovládním teploty od 37 °C do 72 °C
4. Mikrocentrifugační zkumavky (0,5 ml)
5. Fluorescenční mikroskop (viz oddíl Doporučení k fluorescenčnímu mikroskopu)
6. Mikroskop s fázovým kontrastem
7. Čisté plastové, keramické nebo skleněné (z ohnivzdorného skla) lahvičky typu „Coplin“
8. Chirurgické kleště
9. Kalibrovaný pH metr (nebo pH indikační proužky schopné měřit pH v rozmezí 6,5–8,0)
10. Vlhčená nádoba
11. Imerzní olej na objektiv fluorescenčního mikroskopu
12. Stolní odšťedivka
13. Mikroskopická sklička
14. Krycí sklička 24 x 24 mm
15. Stopky
16. Inkubátor 37 °C
17. Lepidlo na bázi kaučukového roztoku
18. Vířivý mixér
19. Odměrné válce
20. Magnetická míchačka
21. Kalibrovaný teploměr

Volitelné vybavení, které není součástí dodávky

1. Cytogenetická sušicí komora

Potřebné reagentie, které nejsou součástí dodávky

1. 20x solný roztok citrátu sodného (SSC)
2. 100% ethanol
3. Tween-20
4. 1M hydroxid sodný (NaOH)
5. 1M kyselina chlorovodíková (HCl)
6. Demineralizovaná voda

Doporučení k fluorescenčnímu mikroskopu

K optimální vizualizaci použijte 100W nebo podobnou rtuťovou lampu a apochromatické objektivy 60/63x nebo 100x s imerzním olejem. Fluorofory použité v této sadě sondy budou excitovat a emitovat při následujících vlnových délkách:

Fluorofor	Excitace _{max} [nm]	Emise _{max} [nm]
DAPI	364	454
Aqua	418	467
Zelená	495	521
Červená	596	615
Zlatá	539	561
Oranžová	551	572

Zajistěte, aby byl mikroskop vybaven příslušnými excitačními a emisními filtry, které pokrývají výše uvedené vlnové délky.

Pro optimální simultánní vizualizaci zelených a červených fluoroforů použijte třípásmový DAPI/zelený/červený filtr nebo dvoupásmový zelený/červený filtr.

Před použitím zkontrolujte správnou funkci fluorescenčního mikroskopu. Použijte imerzní olej vhodný pro fluorescenční mikroskopy a se speciálním složením pro nízkou autofluorescenci. Dbejte, aby nedošlo ke smíchání barviva DAPI antifade

s imerzním olejem do mikroskopu, protože by tak došlo k zastření signálů. Dodržujte doporučení výrobce týkající se životnosti lampy a stáří filtrů.

Příprava vzorků

Sada je určena k použití u hematologicky získaných buněčných suspenzí fixovaných v Carnoyově fixačním roztoku (3 : 1 methanol / kyselina octová) od pacientů s potvrzenou nebo předpokládanou akutní myeloidní leukémií (AML), které jsou připraveny v souladu s pokyny laboratoře nebo zdravotnického zařízení. Na mikroskopická sklička naneste vzorky usušené na vzduchu v souladu se standardními cytogenetickými postupy. *Cytogenetics Laboratory Manual AGT* (Příručka pro cytogenetické laboratoře) obsahuje doporučení pro odběr, kultivaci a získávání vzorků a pro přípravu sklíček³.

Příprava roztoků

Ethanolové roztoky

Rozřeďte 100% ethanol demineralizovanou vodou v následujících poměrech a řádně promíchejte:

- 70% ethanol – 7 dílů 100% ethanolu na 3 díly demineralizované vody
- 85% ethanol – 8,5 dílů 100% ethanolu na 1,5 dílu demineralizované vody

Roztoky skladujte až 6 měsíců při pokojové teplotě ve vzduchotěsné nádobě.

Roztok 2xSSC

Zřeďte 1 díl roztoku 20xSSC 9 díly demineralizované vody a řádně promíchejte. Zkontrolujte pH a podle potřeby upravte pomocí NaOH nebo HCl na pH 7,0. Roztok skladujte ve vzduchotěsné nádobě při pokojové teplotě po dobu až 4 týdnů.

Roztok 0,4xSSC

Zřeďte 1 díl roztoku 20xSSC 49 díly demineralizované vody a řádně promíchejte. Zkontrolujte pH a podle potřeby upravte pomocí NaOH nebo HCl na pH 7,0. Roztok skladujte ve vzduchotěsné nádobě při pokojové teplotě po dobu až 4 týdnů.

Roztok 2xSSC, 0,05% roztok Tween-20

Zřeďte 1 díl roztoku 20xSSC 9 díly demineralizované vody. Na 10 ml přidejte 5 µl roztoku Tween-20 a řádně promíchejte. Zkontrolujte pH a podle potřeby upravte pomocí NaOH nebo HCl na pH 7,0. Roztok skladujte ve vzduchotěsné nádobě při pokojové teplotě po dobu až 4 týdnů.

Protokol FISH

(Poznámka: Dbejte, aby vždy byla omezena expozice sondy a kontrastních barviv vůči osvětlení v laboratoři).

Příprava sklička

1. Naneste buněčný vzorek na mikroskopické podložní skličko. Nechte zaschnout. **(Volitelně při použití cytogenetické sušicí komory:** K optimálnímu nanesení buněčných vzorků by měla komora pracovat při teplotě přibližně 25 °C a 50 % vlhkosti. Pokud cytogenetická sušicí komora není k dispozici, použijte jako alternativu digestoř).
2. Skličko ponořte na 2 minuty do roztoku 2xSSC při pokojové teplotě (RT). Neprotřepávejte.
3. Dehydratujte pomocí etanolové řady (70 %, 85 % a 100 %), vždy po dobu 2 minut při pokojové teplotě.
4. Nechte zaschnout.

Pre-denaturace

5. Vyjměte sondu z mrazničky a nechte ji zahřát na pokojovou teplotu. Zkumavky před použitím krátce odstředěte.
6. Dbejte, aby byl roztok sondy rovnoměrně promíchán pipetou.
7. Na každý test odeberte 10 µl sondy a přeneste ji do mikrocentrifugační zkumavky. Zbytek sondy vraťte rychle do mrazáku.
8. Sondu a skličko se vzorkem umístěte na varnou desku a předeheřte po dobu 5 minut při teplotě 37 °C (+/- 1 °C).
9. Kápněte 10 µl směsi sondy na buněčný vzorek a opatrně jej překryjte krycím skličkem. Neprodyšně uzavřete pomocí lepidla na bázi kaučukového roztoku a nechte lepidlo úplně zaschnout.

Denaturace

10. Zahřívání sklička na varné desce po dobu 2 minut při teplotě 75 °C (+/- 1 °C) vzorek a sondu souběžně denaturujte.

Hybridizace

11. Skličko uložte na noc do vlhké neprůsvitné nádoby při teplotě 37 °C (+/- 1 °C).

Post-hybridizační vymývání

12. Vyjměte DAPI z mrazničky a nechte ho ohřát na pokojovou teplotu.
13. Opatrně sejměte krycí skličko a odstraňte všechny zbytky lepidla.
14. Skličko ponořte na 2 minuty do roztoku 0,4xSSC (pH 7,0) při teplotě 72 °C (+/- 1 °C). Neprotřepávejte.
15. Skličko osušte a na 30 sekund ponořte do roztoku 2xSSC, 0,05% Tween-20 při pokojové teplotě (pH 7,0). Neprotřepávejte.
16. Skličko osušte a na každý vzorek naneste 10 µl barviva DAPI antifade.
17. Přikryjte krycím skličkem, odstraňte veškeré bubliny, uložte do temna a po dobu 10 minut nechte vyvíjet barvu.
18. Zkontrolujte fluorescenčním mikroskopem (viz **Doporučení k fluorescenčnímu mikroskopu**).

Doporučení pro zpracování

1. Vypalování nebo stárnutí sklíček může redukovat fluorescenční signál.
2. Podmínky hybridizace mohou být nepříznivě ovlivněny použitím reagentií, které nejsou dodány nebo doporučeny společností CytoceLL Ltd.

3. K měření teplot roztoků, vodních lázní a inkubátorů používejte kalibrovaný teploměr, protože tyto teploty jsou velmi důležité k zajištění optimální funkce produktu.
4. Koncentrace promývacího roztoku, pH a teploty jsou důležité, protože nedostatečná důslednost může vést k nespecifickému navázání sondy a přílišná důslednost naopak k absenci signálů.
5. Neúplná denaturace může vést k nedostatečnému signálu a příliš dlouhá denaturace může rovněž způsobit nespecifické vazání.
6. Nadměrná hybridizace může způsobit další nebo neočekávané signály.
7. Uživatelé by si měli před použitím testu k diagnostickým účelům optimalizovat protokol na své vlastní vzorky.
8. Neoptimální podmínky mohou vést k nespecifickému vazání, která může být nesprávně interpretována jako signál sondy.

Interpretace výsledků

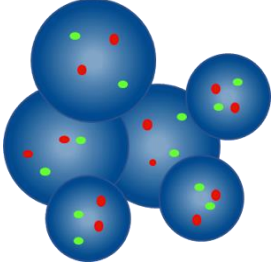
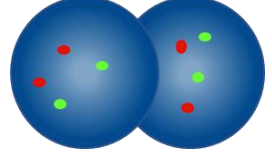
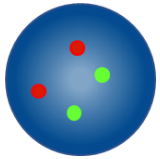
Vyhodnocení kvality sklíčka

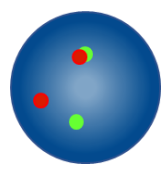
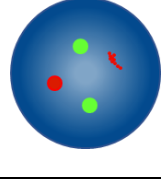
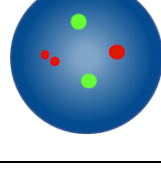
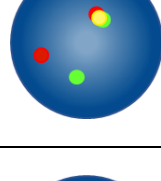
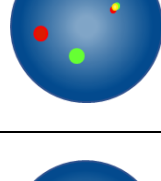
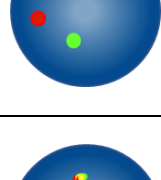
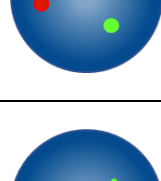
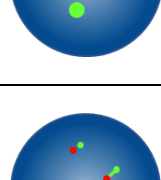
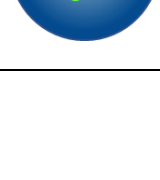
Sklíčko by se nemělo analyzovat, jestliže:

- jsou signály příliš slabé a nelze je proto analyzovat jednoduchými filtry – pro pokračování v analýze musí být signály jasné, výrazné a snadno hodnotitelné
- analýze brání velký počet shluků buněk nebo překrývajících se buněk
- nebylo hybridizováno > 50 % buněk
- mezi buňkami se nachází příliš mnoho fluorescenčních částic a/nebo fluorescenčního zákalu, který ruší signály – u optimálních sklíčků by mělo být pozadí tmavé nebo černé a čisté
- není možné rozlišit hranice buněčných jader a hranice nejsou nepoškozené

Pokyny pro analýzu

- Každý vzorek musí analyzovat a vyhodnotit dva analytici. Jakékoliv nesrovnalosti se musí vyřešit hodnocením třetího analytika
- Všichni analytici musí mít odpovídající kvalifikaci v souladu s uznávanými národními standardy
- Všichni analytici musí provést nezávislé hodnocení 100 jader každého vzorku. První analytik musí začít provádět analýzu z levé strany sklíčka a druhý analytik z pravé strany
- Každý analytik musí zdokumentovat své výsledky na samostatných listech
- Analyzujte pouze nepoškozená jádra, nikoli překrývající se nebo nahromaděná jádra ani jádra překrytá cytoplazmatickými zbytky či jádra s vysokým stupněm autofluorescence
- Vyhněte se místům, kde je příliš mnoho cytoplazmatického odpadu nebo kde se vyskytuje nespecifická hybridizace.
- Intenzita signálu se může lišit, dokonce i v rámci jediného jádra. V takových případech použijte jednoduché filtry a/nebo upravte ohniskovou rovinu
- Za neoptimálních podmínek se mohou signály jevit jako rozptýlené. Jestliže se dva signály stejné barvy vzájemně dotýkají nebo je mezi nimi vzdálenost menší než dvě šířky signálu, případně pokud dva signály spojuje slabý pruh, počítejte je jako jeden signál
- Pokud si nejste jisti, zda lze buňku analyzovat, či nikoli, analýzu neprovádějte

Pokyny pro analýzu	
	Nepočítejte – jádra jsou příliš těsně u sebe, takže není možno určit hranice
	Nepočítejte překrývající se jádra – nejsou viditelné všechny oblasti obou jader
	Předpokládaný vzor normálního signálu (2ČV2Z)

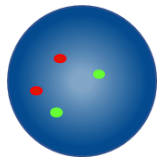
	Normální vzorec signálu (2ČV2Z) – jeden červený a jeden zelený signál jsou kolokalizovány
	Normální vzorec signálu (2ČV2Z) – jeden ze dvou červených signálů je difúzní
	Normální vzorec signálu (2ČV2Z) – mezera v jednom červeném signálu je menší než dvě šířky sondy
	Normální vzorec signálu (2ČV2Z) – jeden červený a jeden zelený signál jsou kolokalizovány
	Předpokládaný vzorec abnormálního signálu (1ČV1Z2F) – červené a zelené fúzní signály jsou úměrně menší
	Předpokládaný vzorec abnormálního signálu (1ČV1Z2F) – kolokalizované fúzní signály
	Předpokládaný vzorec abnormálního signálu (1ČV1Z2F) – kolokalizované fúzní signály
	Předpokládaný vzorec abnormálního signálu (1ČV1Z2F) – dva fúzní signály vedle sebe
	Počítejte jako jeden červený, jeden zelený a dva fúzní signály – jeden fúzní signál je difúzní



Počítejte jako jeden červený, jeden zelený a dva fúzní signály – mezera mezi červeným a zeleným signálem ve fúzích je menší než dvě šířky sondy a fúzní červený a zelený signál jsou úměrně menší

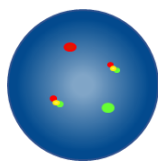
Předpokládané výsledky

Předpokládaný normální vzorec signálu



U normální buňky se předpokládají dva červené a dva zelené signály (2ČV2Z)

Předpokládané abnormální vzory signálu



V buňce s inv(16)(p13.1;q22) nebo t(16;16)(p13.1;q22) bude mít předpokládaný vzorec signálu jeden červený, jeden zelený a dva fúzní signály (1ČV1Z2F).

U aneuploidních/nevyvážených vzorků jsou možné jiné vzory signálu.

Znamé relevantní interference / interferující látky

Nejsou známy žádné relevantní interference / interferující látky.

Znamá zkřížená reaktivita

Zkřížená reaktivita není známa.

Hlášení závažných událostí

Pro pacienta / uživatele / třetí stranu v Evropské unii a v zemích se shodným regulačním režimem (nařízení (EU) 2017/746 o diagnostických zdravotnických prostředcích *in vitro*); pokud během používání tohoto prostředku nebo v důsledku jeho používání došlo k závažné události, nahláste ji výrobci a svému příslušnému národnímu orgánu.

Pokud došlo k závažným událostem v jiných zemích, nahláste je výrobci a případně svému příslušnému národnímu orgánu.

Kontaktní osoba pro vigilanci výrobce: vigilance@oqt.com

Pro příslušné národní orgány v EU je seznam kontaktních míst pro vigilanci k dispozici na adrese:

https://health.ec.europa.eu/medical-devices-sector/new-regulations/contacts_en

Specifické funkční charakteristiky

Analytická specifita

Analytická specifita je definována jako procento signálů, které hybridizují do správného lokusu a na žádné jiné místo. Byly analyzovány dva chromozomální lokusy v každé z dvaceti metafázních buněk z pěti vzorků, což poskytlo 200 datových bodů. Bylo zmapováno umístění všech hybridizovaných sond a byl zaznamenán počet FISH signálů metafázových chromozomů hybridizovaných na správný lokus.

Analytická specifita každého produktu byla vypočtena jako počet FISH signálů metafázního chromozomu hybridizovaných na správný lokus vydělený celkovým počtem hybridizovaných FISH signálů metafázního chromozomu, tento výsledek byl vynásoben číslem 100 a vyjádřen jako procento s intervalem spolehlivosti 95 %.

Tabulka 1. Analytická specifita CBFβ (CBFB)/MYH11 Translocation, Dual Fusion Probe

Cíl	Počet hybridizovaných metafázových chromozomů	Počet správně hybridizovaných lokusů	Analytická specifita	Interval spolehlivosti 95 %
16q22	200	200	100 %	98,12 % – 100 %
16p13.1	200	200	100 %	98,12 % – 100 %

Analytická citlivost

Analytická citlivost je procento započítatelných interfázních buněk s předpokládaným normálním vzorcem signálu. U každého z 25 vzorků z kostní

dřeně bylo analyzováno minimálně 200 interfázních buněk, což u každého typu vzorku znamenalo minimálně 5 000 hodnocených jader. Byly analyzovány údaje o citlivosti na základě procenta buněk vykazujících předpokládaný normální vzor signálu, a byly vyjádřeny jako procento s 95% intervalem spolehlivosti.

Tabulka 2. Analytická citlivost CBFβ (CBFB)/MYH11 Translocation, Dual Fusion Probe

Typ vzorku	Kritéria citlivosti	Výsledek citlivosti
Kostní dřeň	> 95 %	98,94 % (98,59 % – 99,29 %)

Charakteristika normálních mezních hodnot

Normální mezní hodnoty jsou definovány jako procento buněk vykazujících falešně pozitivní vzor signálu, při němž by hodnota u pacienta byla považována za normální a neodpovídala klinické diagnóze. U každého z 1 300 vzorků z kostní dřeně bylo analyzováno minimálně 200 interfázních buněk, což u každého typu vzorku znamenalo minimálně 260 000 hodnocených jader.

Mezní hodnota byla určena pomocí funkce β-inverze (BETAINV) v aplikaci MS Excel. Byla vypočtena jako procento interfázních buněk vykazujících falešně pozitivní vzor signálu pomocí horní hranice jednostranného 95% intervalu spolehlivosti binomického rozdělení u normálního vzorku pacienta.

Tabulka 3. Charakteristika normálních mezních hodnot CBFβ (CBFB)/MYH11 Translocation, Dual Fusion Probe

Typ vzorku	Mezní výsledek
Kostní dřeň	2,3 %

Laboratoře si musí ověřit mezní hodnoty za použití vlastních dat^{4,5}.

Reprodukovatelnost

Byly provedeny studie reprodukovatelnosti za účelem zjištění:

- Reprodukovatelnosti na 3 pracovištích v rámci jednoho dne (mezi vzorky)
- Reprodukovatelnosti na 3 pracovištích v rámci různých dnů (mezi dny)
- Reprodukovatelnosti na 3 pracovištích v rámci různých pracovišť (mezi pracovišti)
- Reprodukovatelnosti na jednom pracovišti v rámci různých šarží (mezi šaržemi)

Reprodukovatelnost byla stanovena třemi nezávislými laboratořemi, které testovaly šest zaslápaných vzorků (dva negativní na přeskupení, dva vzorky s nízkou pozitivitou, které odpovídaly 1 až 3násobku mezní hodnoty, a dva vysoce pozitivní vzorky, které obsahovaly více než 45 % buněk pozitivních na přeskupení). Analýza byla provedena pomocí dvou opakovaní jednotlivých vzorků v průběhu pěti dnů, které nenásledovaly po sobě.

Všechny tři laboratoře prováděly testování v rámci stejného dne, v rámci různých dnů a v rámci různých laboratoří s použitím stejné šarže sondy, přičemž jedna z laboratoří také provedla testování reprodukovatelnosti v různých šaržích, kdy použila tři různé šarže sondy.

Výsledky byly prezentovány jako všeobecná shoda s předpovídanou negativní klasifikací (u negativních vzorků) a předpovídanou pozitivní klasifikací (u pozitivních vzorků).

Tabulka 4a. Reprodukovatelnost a přesnost CBFβ (CBFB)/MYH11 Translocation, Dual Fusion Probe

Variabilní	Typ vzorku	Shoda
Reprodukovatelnost v rámci jednoho dne (mezi vzorky), v rámci různých dnů (mezi dny), v rámci různých pracovišť (mezi pracovišti)	Negativní kostní dřeň	100 %
	Kostní dřeň s nízkou pozitivitou	35 %
	Kostní dřeň s vysokou pozitivitou	100 %
Reprodukovatelnost mezi šaržemi	Negativní kostní dřeň	100 %
	Kostní dřeň s nízkou pozitivitou	33 %
	Kostní dřeň s vysokou pozitivitou	100 %

Byla provedena dodatečná studie reprodukovatelnosti za účelem doplnění výsledků s nízkou pozitivitou pomocí dvou vzorků s různými nízkými hladinami positivity (2x a 4x mezní hodnota) a dvou negativních vzorků pro stanovení:

- Reprodukovatelnosti na jednom pracovišti v rámci jednoho dne (mezi vzorky)
- Reprodukovatelnosti na jednom pracovišti v rámci různých dnů (mezi dny)
- Reprodukovatelnosti na jednom pracovišti u různých pracovníků (mezi pracovníky)

Reprodukovatelnost byla stanovena pomocí jedné šarže sondy, vyhodnocena na dvou opakovaných každého vzorku, testována po dobu pěti dnů, které nenásledovaly po sobě, dvěma různými pracovníky.

Výsledky byly prezentovány jako celková shoda s předpovídanou pozitivní klasifikací (u pozitivních vzorků).

Tabulka 4b. Další podpůrná data pro reprodukovatelnost a přesnost CBFβ (CBFB)/MYH11 Translocation, Dual Fusion Probe

Variabilní	Typ vzorku	Shoda
Reprodukovatelnost v rámci jednoho dne (mezi vzorky), v rámci různých dnů (mezi dny), u různých pracovníků (mezi pracovníky)	Kostní dřeň s nízkou pozitivitou (2x mezní hodnota)	100 %
	Kostní dřeň s nízkou pozitivitou (4x mezní hodnota)	100 %

Klinická funkce

Aby bylo zajištěno, že sonda CBFβ (CBFB)/MYH11 Translocation, Dual Fusion Probe odhalí záměrná přeskupení, byla pro tento produkt stanovena pomocí čtyř (4) studií klinická funkce (účinnost) na reprezentativních vzorcích určené populace: zbytkový materiál fixovaný methanolem / kyselinou octovou v poměru 3 : 1. Tyto studie měly celkovou velikost vzorku tři sta devadesát tři (393) vzorků, s celkem dvaceti osmi (28) pozitivními vzorky a třemi sty šedesáti pěti (365) negativními vzorky. Výsledky byly porovnány se známým stavem vzorku. Bylo zjištěno, že shoda/neshoda výsledků splňuje kritéria přijatelnosti pro tuto studii. Výsledky těchto testů byly analyzovány, aby poskytl hodnoty klinické citlivosti, klinické specifity a míru falešné positivity (FPR) pozitivních signálů pomocí jednorozměrného přístupu.

Tabulka 5. Klinická funkce CBFβ (CBFB)/MYH11 Translocation, Dual Fusion Probe

Variabilní	Výsledek
Klinická citlivost (míra skutečné positivity, TPR) *	98,76 %
Klinická specifita (míra skutečné negativity, TNR)*	99,52 %
Míra falešné positivity (FPR) = 1 – specifita*	0,48 %

Souhrn bezpečnosti a funkce (SSP)

SSP je zpřístupněn veřejnosti prostřednictvím evropské databáze zdravotnických prostředků (Eudamed), kde je propojen se základním UDI-DI.

Eudamed URL: <https://ec.europa.eu/tools/eudamed>

Základní UDI-DI: 50558449LPH022J9

Pokud není systém Eudamed plně funkční, musí být SSP zpřístupněn veřejnosti na základě žádosti zasláné e-mailem na adresu SSP@ogt.com.

Další informace

Další informace o produktu vám sdělí oddělení technické podpory společnosti CytoCell.

T: +44 (0)1223 294048

E-mail: techsupport@cytozell.com











W: www.ogt.com

Reference


1. WHO Classification of Tumours Editorial Board. *Haematolymphoid tumours* [Internet; beta version ahead of print]. Lyon (France): International Agency for Research on Cancer; 2022 [cited 2023 Nov 03]. (WHO classification of tumours series, 5th ed.; vol. 11). Available from: <https://tumourclassification.iarc.who.int/chapters/63>
2. Döhner, et al. *Blood*. 2022;140(122):1345-1377.
3. Arsham, MS., Barch, MJ. and Lawce HJ. (eds.) (2017) *The AGT Cytogenetics Laboratory Manual*. New Jersey: John Wiley & Sons Inc.
4. Mascarello JT, Hirsch B, Kearney HM, et al. *Section E9 of the American College of Medical Genetics technical standards and guidelines: fluorescence in situ hybridization*. *Genet Med*. 2011;13(7):667-675.
5. Wiktor AE, Dyke DL, Stupca PJ, Ketterling RP, Thorland EC, Shearer BM, Fink SR, Stockero KJ, Majorowicz JR, Dewald GW. *Preclinical validation of fluorescence in situ hybridization assays for clinical practice*. *Genetics in Medicine*. 2006;8(1):16–23.

Slovníček symbolů

EN ISO 15223-1:2021 – „Zdravotnické prostředky – Značky pro štítky, označování a informace poskytované se zdravotnickými prostředky – Část 1: Obecné požadavky“ (© International Organization for Standardization)		
Symbol	Název	Referenční číslo/čísla
	cs: Výrobce	5.1.1
	cs: Zplnomocněný zástupce v Evropském společenství / Evropské unii	5.1.2
	cs: Datum spotřeby	5.1.4

	cs: Kód šarže	5.1.5
	cs: Katalogové číslo	5.1.6
	cs: Chraňte před slunečním světlem	5.3.2
	cs: Omezení teploty	5.3.7
	cs: Viz návod k použití	5.4.3
	cs: Viz elektronický návod k použití	5.4.3
	cs: Upozornění	5.4.4
	cs: Diagnostický zdravotnický prostředek <i>in vitro</i>	5.5.1
	cs: Obsah dostačuje k provedení <n> testů	5.5.5
	cs: Jedinečný identifikátor prostředku	5.7.10

Symbole EDMA pro IVD reagencie a složky, revize říjen 2009

Symbol	Název	Referenční číslo/čísla
	cs: Obsah (nebo obsahuje)	N/A

Patenty a ochranné známky

CytoCell je registrovaná ochranná známka společnosti CytoCell Limited.



CytoCell Limited

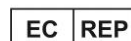
Oxford Gene Technology
418 Cambridge Science Park
Milton Road
CAMBRIDGE
CB4 0PZ
SPOJENÉ KRÁLOVSTVÍ

T: +44 (0)1223 294048

F: +44 (0)1223 294986

E-mail: probes@cytozell.com

W: www.ogt.com



Sysmex Europe SE

Bornbarch 1
22848 Norderstedt
NĚMECKO

T: +49 40 527260

W: www.sysmex-europe.com

Historie verzí IFU

V001 2023-10-09: Nový IFU z důvodu nařízení (EU) 2017/746.