



A Sysmex Group Company



Lietošanas instrukcijas

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

CBFβ (CBFB)/MYH11 Translocation, Dual Fusion Probe



TIKAI PROFESIONĀLAM LIETOJUMAM



Papildinformācija un informācija citās valodās ir pieejama vietnē ogt.com/IFU

Paredzētais lietošanas mērķis

Zonde CytoCell® CBFβ (CBFB)/MYH11 Translocation, Dual Fusion probe ir kvalitatīvs, neautomatizēts luminiscentās in situ hibridizācijas (fluorescence in situ hybridisation — FISH) tests, kas paredzēts hromosomālo pārkārtojumu noteikšanai starp 16. hromosomas reģionu 16p13.1 un 16. hromosomas reģionu 16q22 Karnuā šķīdumā (3:1 metanols/etiķskābe) fiksētās hematoloģiski iegūtās šūnu suspensijās no pacientiem, kuriem ir konstatēta akūta mieloleikoze (AML) vai pastāv aizdomas par tās esamību.

Lietošanas indikācijas

Šo ierīci ir paredzēts izmantot kā citu klīnisko un histopatoloģisko testu papildinājumu atzītās diagnostikas un klīniskās aprūpes metodēs, kad informācija par *CBFB::MYH11* translokācijas statusu ir svarīga klīniskajai pārvaldībai.

Ierobežojumi

Šī ierīce ir paredzēta pārkārtojumu ar pārtraukumpunktiem noteikšanai reģionā, ko nosedz sarkanie un zaļie kloni šajā zonžu komplektā, kurā ietilpst *CBFB* un *MYH11* reģioni. Izmantojot šo ierīci, var netikt noteikti pārtraukumpunkti ārpus šī reģiona vai pārkārtojumu varianti, kas pilnībā ietilpst šajā reģionā.

Šī ierīce nav paredzēta: izmantošanai autonoma diagnostikas līdzekļa statusā, papildu diagnostikas nolūkā, prenatalai testēšanai, konkrētu populāciju skrīningam, testēšanai ārpus laboratorijas un paštestēšanai.

Šī ierīce nav apstiprināta paraugu veidiem, slimību tipiem vai mērķiem, kas neatbilst paredzētajam lietošanas mērķim.

Tā ir paredzēta kā citu diagnostisko laboratorijas testu palīg līdzeklis, un lēmumus par terapiju nedrīkst pieņemt, vadoties tikai pēc FISH testa rezultātiem.

Ziņošana par FISH testa rezultātiem un to interpretēšana ir jāveic atbilstoši kvalificētam personālam saskaņā ar profesionālajiem prakses standartiem, un ir jāņem vērā citu testu rezultāti, klīniskā un diagnostikas informācija.

Šī ierīce ir paredzēta tikai profesionālam lietojumam laboratorijā.

Protokola neievērošana var ietekmēt veikspēju, un var tikt iegūti kļūdaini pozitīvi vai kļūdaini negatīvi rezultāti.

Testa principi

Fluorescences *in situ* hibridizācija (FISH) ir metode, kas ļauj noteikt DNS sekvenču metafāzu hromosomās vai starpfazes kodolos fiksētiem citoģenētiskiem paraugiem. Šajā metodē tiek izmantotas DNS zondes, kas hibridizējas ar veselām hromosomām vai atsevišķām unikālām sekvencēm un kalpo kā efektīvs G joslu citoģenētiskās analīzes palīg līdzeklis. Šo metodi tagad var lietot kā būtisku izmeklēšanas instrumentu prenatalajā, hematoloģiskajā un solidū audzēju hromosomālajā analīzē. Mērķa DNS pēc fiksācijas un denaturēšanas ir pieejama hibridizācijai ar līdzīgi denaturētu, DNS zondi ar fluorescentu marķējumu, kurai ir papildu sekvenču. Pēc hibridizācijas nesaisītā un nespecifiski saistītā DNS zonde tiek aizvākta un DNS tiek kontrastēta vizualizācijai. Pēc tam, izmantojot fluorescences mikroskopiju, hibridizēto zondi var vizualizēt mērķa materiālā.

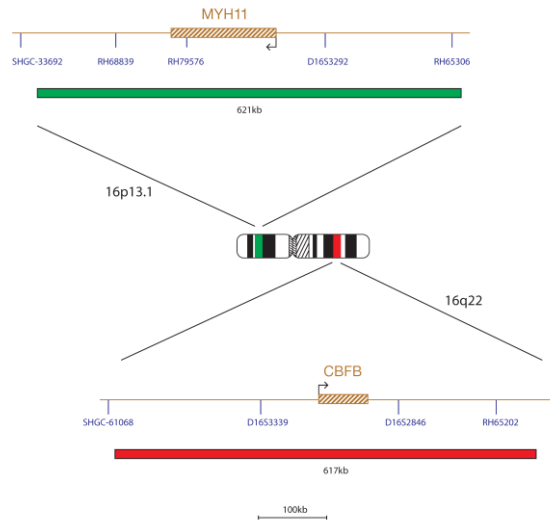
Informācija par zondi

Gēns *CBFB* (pie centra piesaistošā faktora apakšvienības beta) atrodas reģionā 16q22, savukārt gēns *MYH11* (11. miozīna smagā ķēde) atrodas reģionā 16p13.1. Inversijas inv(16)(p13.1q22) un translokācijas t(16;16)(p13.1;q22) rezultātā rodas *CBFB::MYH11* fūzijas gēns. Akūta mieloleikoze ar *CBFB::MYH11* fūziju ir atzīta saslimšana saskaņā ar Pasaules Veselības organizācijas (PVO) klasifikāciju¹. Šis AML veids veido 5–8 % gadījumu gados jaunākiem pieaugušiem pacientiem un ir retāk sastopams gados vecākiem pieaugušajiem¹. Inversija inv(16)(p13.1q22) ir visbiežāk sastopamais citoģenēzes izmaiņu veids, kas konstatēts aptuveni 95 % *CBFB::MYH11* pacientu¹. AML prognoze *CBFB::MYH11* gadījumā ir labvēlīga — aptuveni 50 % pieaugušo pacientu ir labi ilgtermiņa izdzīvotības rādītāji^{1,2}.

Zondes specifikācija

CBFB, 16q22, sarkana
MYH11, 16p13.1, zaļa

CMP-H077 v005.00



CBFB zonde, marķēta sarkanā krāsā, nosedz 617kb reģionu, kas ietilpst reģionā 16q22, un ietver *CBFB* gēnu. MYH11 zonde, marķēta zaļā krāsā, nosedz 621kb reģionu, kas ietilpst reģionā 16p13.1, un ietver gēnu *MYH11*.

Nodrošinātie materiāli

Zonde: 50 µL flakonā (5 testi) vai 100 µL flakonā (10 testi)

Zondes tiek nodrošinātas iepriekš sajauktā veidā hibridizācijas šķīdumā (< 65 % formamīds; < 20 mg dekstrāna sulfāts; < 10 % 20x citrāta fizioloģiskais šķīdums (salīne-sodium citrate — SSC)), kas ir sagatavotas lietošanai.

Kontrasta krāsviela: 150 µL flakonā (15 testi)

Kontrasta krāsviela ir DAPI fluorescences uzturēšanas šķīdums ES (0,125 µg/mL DAPI (4,6-diamidīno-2-fenilindols) glicerīnu saturošā iekļaušanas vidē).

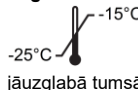
Brīdinājumi un piesardzības pasākumi

1. Lietošanai *in vitro* diagnostikā. Tikai profesionālam lietojumam laboratorijā.
2. Zondes maisījumos ietilpst formamīds, kas ir teratogēns, tādēļ nedrīkst pieļaut to izgarojumu ieelpošanu un nonākšanu saskarē ar ādu. Lietojot ievērojiet piesardzību; valkājiet cimdus un laboratorijas virsvalku.
3. Rīkojieties ar DAPI piesardzīgi; valkājiet cimdus un laboratorijas virsvalku.
4. Nelietojiet, ja flakons(-i) ir bojāts(-i) vai flakona saturs jebkāda veidā ir bojāts.
5. Izpildiet vietējos utilizācijas noteikumus, kā arī drošības datu lapā sniegtos ieteikumus par drošu šī produkta utilizāciju. Tas attiecas arī uz bojātu testa komplekta saturu.
6. Utilizējiet visus izmantotos reaģentus un jebkādus citus piesārņotus vienreizlietojamus materiālus, ievērojot procedūras attiecībā uz infekcioziem vai potenciāli infekcioziem atkritumiem. Katra laboratorija ir atbildīga par rīcību ar cietajiem un šķidrājiem atkritumiem atbilstoši to veidam un bīstamības pakāpei, kā arī par to apstrādi un utilizāciju (līdz šim un turpmāk) saskaņā ar spēkā esošajiem noteikumiem.
7. Operatoriem jāspēj atšķirt sarkano, zilo un zaļo krāsu.
8. Neievērojot norādīto protokolu un norādījumus par reaģentiem, var tikt ietekmēta veikspēja un iegūti kļūdaini pozitīvi/negatīvi rezultāti.
9. Zondi nedrīkst atšķaidīt vai veidot maisījumus ar citām zondēm.
10. Ja protokola iepriekšējās denaturēšanas fāzes laikā netiek izmantoti 10 µL no zondes, var tikt ietekmēta veikspēja un iegūti kļūdaini pozitīvi/negatīvi rezultāti.
11. Pirms lietošanas visi produkti ir jāapstiprina.
12. Iekšējās kontroles jāveic, testēšanas paraugos izmantojot neietekmētas šūnu populācijas.

Temperatūras definīcijas

- -20 °C/sasadzēts/saldētavā: No -25 °C līdz -15 °C
- 37 °C: +37 °C ± 1 °C
- 72 °C: +72 °C ± 1 °C
- 75 °C: +75 °C ± 1 °C
- Istabas temperatūra (Room Temperature — RT): No +15 °C līdz +25 °C

Uzglabāšana un lietošana

 Komplekts ir jāglabā saldētavā temperatūrā no -25 °C līdz -15 °C līdz pat derīguma termiņa beigām datumam, kas norādīts uz komplekta etiķetes. Zondes un kontrasta krāsvielas flakoni ir jāuzglabā tumšā.



FISH zonde, DAPI Antifade ES kontrastviela un hibridizācijas šķīdums paliek stabili visos sasaldēšanas-atkausēšanas ciklos parastās lietošanas laikā (kur viens cikls ir flakona izņemšana no saldētavas un ievietošana tajā atpakaļ) — 5 cikli 50 µL (5 testi) FISH zondes flakonam, 10 cikli 100 µL (10 testi) FISH zondes flakonam un 15 cikli 150 µL (15 testi) kontrastvielas flakonam. Pēc iespējas jāsamazina gaismas iedarbība un jāizvairās no tās, kad vien iespējams. Uzglabājiet komponentus nodrošinātā gaisma necaurlaidīgā konteinerā. Komponenti, kas izmantoti uzglabāti apstākļos, kas nav norādīti marķējumā, var nedarboties, kā paredzēts, un tie var negatīvi ietekmēt analīzes rezultātus. Ir jādara viss iespējamais, lai ierobežotu gaismas un temperatūras svārstību ietekmi.

Aprīkojums un materiāli, kas ir nepieciešami, bet nav iekļauti komplektācijā

Ir jāizmanto kalibrēts aprīkojums:

1. Sildierīce (ar cietu sildvirsmu un precīzu temperatūras regulēšanu līdz pat 80 °C)
2. Kalibrētas mainīga tilpuma mikropipetes un uzgaļi 1–200 µL diapazonā
3. Ūdens vanna ar precīzu temperatūras regulēšanu 37 °C un 72 °C
4. Mikrocentrifūgas mēģenes (0,5 mL)
5. Fluorescences mikroskops (sk. sadaļu "Uz fluorescences mikroskopu attiecināmie ieteikumi")
6. Fāžu kontrasta mikroskops
7. Tīri plastmasas, keramikas vai karstumizturīga stikla Koplina trauki
8. Pincete
9. Kalibrēta pH mērierīce (vai pH indikatora strēmeles, ar kurām var veikt mērījumus pH 6,5–8,0 diapazonā)
10. Konteiners ar mitru vidi
11. Fluorescenci atbilstoša mikroskopa objektīva iegremdēšanas eļļa
12. Galda centrifūga
13. Mikroskopa priekšmetstiklīši
14. 24x24 mm segstiklīši
15. Taimeris
16. 37 °C inkubators
17. Gumijas līme
18. Virpuļmaisītājs
19. Mērcilindri
20. Magnētiskais maisītājs
21. Kalibrēts termometrs

Papildaprīkojums, kas nav ietverts komplektācijā

1. Citoģenētiskā žāvēšanas kamera

Nepieciešamie reaģenti, kas nav ietverti komplektācijā

1. 20x citrāta fizioloģiskais šķīdums (saline-sodium citrate — SSC)
2. 100 % etanols
3. Tween-20
4. 1M nātrija hidroksīds (NaOH)
5. 1M sālsskābe (HCl)
6. Attīrīts ūdens

Uz fluorescences mikroskopu attiecināmie ieteikumi

Lai nodrošinātu optimālu vizualizāciju, izmantojiet 100 W dzīvsudraba spuldzi vai ekvivalentu gaismas avotu un eļļā iegremdējamus 60/63x vai 100x objektīvus. Šajā zonžu komplektā izmantotie fluorofori tiks ierosināti un izstaros tālāk norādītā garuma viļņos.

Fluorofors	Ierosme _{max} [nm]	Izstarošana _{max} [nm]
DAPI	364	454
Zils	418	467
Zaļš	495	521
Sarkans	596	615
Zelta	539	561
Oranža	551	572

Pārlicinieties, vai mikroskops ir aprīkots ar iepriekš norādītajiem viļņa garumiem atbilstošiem ierosmes un izstarošanas filtriem.

Lai nodrošinātu optimālu zaļo un sarkano fluoroforu vienlaicīgu vizualizāciju, izmantojiet trīsjoslu DAPI/zaļā spektra/sarkanā spektra filtru vai divjoslu zaļā spektra/sarkanā spektra filtru.

Pirms lietošanas pārbaudiet fluorescences mikroskopu, lai pārlicinātos, vai tas darbojas pareizi. Izmantojiet iegremdēšanas eļļu, kas piemērota fluorescences mikroskopijai un nodrošina zemu automātiskās fluorescences līmeni. Izvairieties

no DAPI luminescences uzturēšanas šķīduma sajaukšanās ar mikroskopa iegremdēšanas eļļu, jo pretējā gadījumā radīsies signāla traucējumi. Rīkojieties atbilstoši ražotāja ieteikumiem attiecībā uz lampas un filtru kalpošanas ilgumu.

Paraugu sagatavošana

Šis komplekts ir paredzēts izmantošanai ar hematoloģiski iegūtām šūnu suspensijām, kas fiksētas Karnuā šķīdumā (3:1 metanols/etiķskābe), no pacientiem, kuriem ir konstatēta akūta mieloleikoze (AML) vai arī pastāv aizdomas par tās esamību, un ir sagatavotas atbilstoši laboratorijā vai iestādē spēkā esošajam vadlīnijām. Sagatavojiet gaisā nožāvētus paraugus uz mikroskopa priekšmetstiklīšiem atbilstoši standartā citoģenētiskajām procedūrām. AGT *citoģenētiskās laboratorijas rokasgrāmata* ir ietverti ieteikumi par paraugu paņemšanu, kultivēšanu, ievākšanu un priekšmetstiklīņu sagatavošanu³.

Šķīdumu sagatavošana

Etanola šķīdumi

Atšķaidiet 100 % etanolu ar attīrītu ūdeni atbilstoši tālāk norādītajām proporcijām un rūpīgi samaisiet.

- 70 % etanols — 7 daļas 100 % etanola un 3 daļas attīrīta ūdens
 - 85 % etanols — 8,5 daļas 100 % etanola un 1,5 daļas attīrīta ūdens
- Glabājiet šķīdumus līdz pat 6 mēnešiem istabas temperatūrā hermētiski noslēdzamā konteinerā.

2xSSC šķīdums

Atšķaidiet 1 daļu 20xSSC šķīduma ar 9 daļām attīrīta ūdens un rūpīgi samaisiet. Pārbaudiet pH līmeni un nodrošiniet, lai tā pH būtu 7,0, pēc nepieciešamības izmantojot NaOH vai HCl. Uzglabājiet šķīdumu līdz pat 4 nedēļu ilgumā istabas temperatūrā hermētiski noslēdzamā konteinerā.

0,4xSSC šķīdums

Atšķaidiet 1 daļu 20xSSC šķīduma ar 49 daļām attīrīta ūdens un rūpīgi samaisiet. Pārbaudiet pH līmeni un nodrošiniet, lai tā pH būtu 7,0, pēc nepieciešamības izmantojot NaOH vai HCl. Uzglabājiet šķīdumu līdz pat 4 nedēļu ilgumā istabas temperatūrā hermētiski noslēdzamā konteinerā.

2xSSC, 0,05 % Tween-20 šķīdums

Atšķaidiet 1 daļu 20xSSC šķīduma ar 9 daļām attīrīta ūdens. Pievienojiet 5 µL Tween-20 uz 10 mL un rūpīgi samaisiet. Pārbaudiet pH līmeni un nodrošiniet, lai tā pH būtu 7,0, pēc nepieciešamības izmantojot NaOH vai HCl. Uzglabājiet šķīdumu līdz pat 4 nedēļu ilgumā istabas temperatūrā hermētiski noslēdzamā konteinerā.

Fluorescentās in situ hibridizācijas (FISH) protokols

(Piezīme. Nodrošiniet, lai zonde un kontrasta krāsvielu pēc iespējas mazāk tiktu pakļauta laboratorijas apgaismojuma iedarbībai).

Priekšmetstiklīņa sagatavošana

1. Novietojiet šūnu paraugu uz mikroskopa priekšmetstiklīņa, kas izgatavots no stikla. Ļaujiet nožūt. (Pēc izvēles, ja izmanto citoģenētisko žāvēšanas kameru: Lai nodrošinātu optimālu šūnu parauga sagatavošanu, kamera jādarbina, iestatot aptuveni 25 °C temperatūru un 50 % mitrumu. Ja citoģenētiskā žāvēšanas kamera nav pieejama, kā alternatīvu var izmantot gāzu nosūcēju).
2. Iegremdējiet priekšmetstiklīņu 2xSSC šķīdumā istabas temperatūrā uz 2 minūtēm, neveicot maisīšanu.
3. Veiciet dehidrēšanas etanolā sērijas (70 %, 85 % un 100 %), katru 2 minūtes istabas temperatūrā.
4. Ļaujiet nožūt.

Iepriekšēja denaturēšana

5. Izņemiet zondi no saldētavas un ļaujiet tai sasilt līdz istabas temperatūrai. Pirms mēģeņu lietošanas brīdī tās centrifugējiet.
6. Izmantojot pipeti, pārlicinieties, vai zondes šķīdums ir viendabīgi samaisīts.
7. Paņemiet 10 µL zondes šķīduma katram testam un pārnesiet to mikrocentrifūgas mēģenē. Atlikušo zondes šķīdumu nekavējoties ievietojiet atpakaļ saldētavā.
8. Novietojiet zondi un parauga priekšmetstiklīņu uz sildierīces un veiciet iepriekšēju sildīšanu 37 °C (+/- 1 °C) temperatūrā 5 minūšu ilgumā.
9. Uzplīniet 10 µL zondes maisījuma uz šūnu parauga un uzmanīgi uzlieciet segstiklīņu. Hermetizējiet ar gumijas līmi un ļaujiet līmei pilnībā nožūt.

Denaturēšana

10. Veiciet parauga un zondes vienlaicīgu denaturēšanu, sildot priekšmetstiklīņu uz sildierīces 75 °C (+/- 1 °C) temperatūrā 2 minūšu ilgumā.

Hibridizācija

11. Ievietojiet priekšmetstiklīņu gaismu necaurlaidīgā konteinerā ar mitru vidi un atstājiet to 37 °C (+/- 1 °C) temperatūrā līdz nākošajai dienai.

Skalošana pēc hibridizācijas

12. Izņemiet DAPI no saldētavas un ļaujiet tam sasilt līdz istabas temperatūrai.
13. Noņemiet segstiklīņu un rūpīgi notīriet visas līmes atliekas.
14. Iegremdējiet priekšmetstiklīņu 0,4xSSC (pH 7.0) 72 °C (+/- 1 °C) temperatūrā 2 minūšu ilgumā, bez maisīšanas.
15. Noteciniet šķīdumu no priekšmetstiklīņa un iegremdējiet to 2xSSC, 0,05 % Tween-20 šķīdumā istabas temperatūrā (pH 7.0) uz 30 sekundēm netaisot.
16. Noteciniet šķīdumu no priekšmetstiklīņa un katram paraugam pievienojiet 10 µL fluorescences uzturēšanas līdzekli ar DAPI.
17. Uzlieciet segstiklīņu, izvadiet burbuļus un ļaujiet krāsai tumsā attīstīties 10 minūtes.
18. Skatiet fluorescences mikroskopā (sk. Uz fluorescences mikroskopu attiecināmie ieteikumi).

Ieteikumi attiecībā uz procedūru

1. Priekšmetstikliņu karsēšana vai novecošana var samazināt signāla fluorescenci.
2. Tādu reaģentu izmantošana, kas nav uzņēmuma CytoCELL Ltd. nodrošinātie vai ieteiktie reaģenti, var nelabvēlīgi ietekmēt hibridizācijas apstākļus.
3. Šķīdumu, ūdens vannu un inkubatoru temperatūras mērīšanai jāizmanto kalibrēts termometrs, jo norādītās temperatūras ievērošana ir kritiski svarīga produkta optimālas veiktspējas nodrošināšanai.
4. Skalošanas šķīdumu koncentrācijas, pH un temperatūras vērtības ir svarīgas, jo pārāk augstas intensitātes gadījumā iespējama nespecifiska zondes sasaiste, savukārt pārāk mazas intensitātes gadījumā var trūkt signāla.
5. Nepilnīga denaturēšana var izraisīt signāla nepietiekamību, savukārt pārmērīga denaturēšana arī var izraisīt nespecifisku sasaisti.
6. Pārmērīgas hibridizācijas dēļ iespējami papildu vai neparedzēti signāli.
7. Pirms testa izmantošanas diagnostikas nolūkiem lietotājiem ir jāveic protokola optimizācija atbilstoši saviem paraugiem.
8. Ja apstākļi nav pietiekami optimāli, iespējama nespecifiska sasaiste, kas var tikt nepareizi interpretēta kā zondes signāls.

Rezultātu interpretēšana

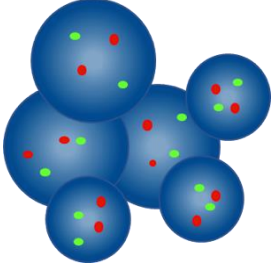
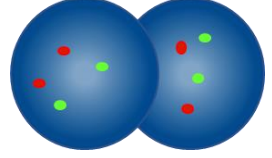
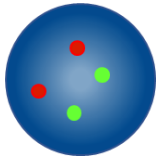
Sagatavotā priekšmetstikliņa ar paraugu kvalitātes novērtēšana

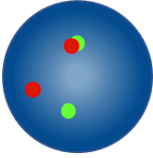
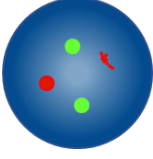
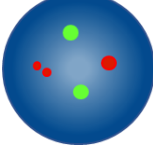
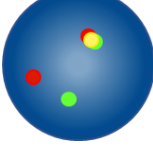
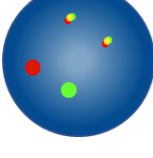
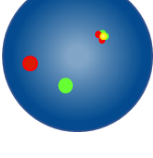
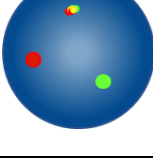
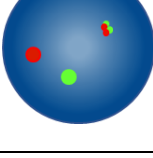
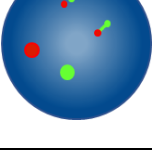
Paraugu nedrīkst analizēt tālāk norādītajos gadījumos.

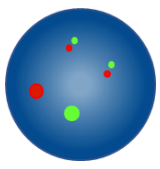
- Signāli ir pārāk vāji analizēšanai atsevišķos filtrus — lai veiktu analīzi, signāliem jābūt spilgtiem, labi izšķiramiem un viegli novērtējamiem
- Ir daudz salīpušu/pārklājošos šūnu, kas traucē veikt analīzi
- >50 % šūnu nav hibridizētas
- Starp šūnām atrodas pārāk daudz fluorescences daļiņu un/vai fluorescences dūmakas, kas rada signāla traucējumus, — optimālā priekšmetstikliņā ar paraugu fonam jābūt tumšam vai melnam un tīram
- Šūnu kodolu robežas nav izšķiramas un nav veselas

Uz analīzi attiecināmās vadlīnijas

- Katra parauga analīzi un interpretēšanu ir jāveic diviem laboratorijas speciālistiem. Visas neatbilstības ir jānovērš, novērtēšanu veicot trešajam laboratorijas speciālistam
- Katram laboratorijas speciālistam jābūt attiecīgi kvalificētam atbilstoši spēkā esošajiem valsts līmeņa standartiem
- Katram laboratorijas speciālistam neatkarīgi jāveic novērtēšana 100 kodoliem no katra parauga. Pirmajam laboratorijas speciālistam jāsadala analīze no priekšmetstikliņa kreisās puses, savukārt otram laboratorijas speciālistam — no priekšmetstikliņa labās puses
- Katram laboratorijas speciālistam jādokumentē savi rezultāti atsevišķās lapās
- Ir jāanalizē tikai veseli kodoli, nevis pārklājošies kodoli, sablīvējušies kodoli vai kodoli, kurus sedz citoplazmatiskās atliekas vai augsta līmeņa automātiskā fluorescence
- Jāizvairās no zonām ar pārmērīgu citoplazmatisko atlieku apjomu vai nespecifisku hibridizāciju.
- Signāla intensitāte var būt mainīga, pat vienā kodolā. Šādos gadījumos izmantojiet atsevišķus filtrus un/vai pielāgojiet fokālo plakni
- Ja apstākļi nav pietiekami optimāli, signāli var šķīst izkliedēti. Ja divi vienādas krāsas signāli savstarpēji saskaras vai attālums starp tiem nepārsniedz divus signāla platumus, vai arī abus signālus savieno tikko redzams pavediens, šie signāli ir uzskatāmi par vienu signālu.
- Ja pastāv šaubas, vai šūna ir analizējama, neveiciet tās analīzi.

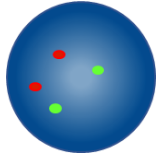
Uz analīzi attiecināmās vadlīnijas	
	Neskaitīt — kodoli atrodas pārāk tuvu viens otram, lai varētu noteikt to robežas
	Neskaitīt pārklājošos kodolus — nav redzamas visas abu kodolu zonas
	Paredzamais normālu signālu modelis (2S, 2Z)

	Normālu signālu modelis (2S, 2Z) — viens sarkans un viens zaļš signāls ir kolokalizēti
	Normālu signālu modelis (2S, 2Z) — viens no abiem sarkanajiem signāliem ir difūzs
	Normālu signālu modelis (2S, 2Z) — atstarpe vienā sarkanajā signālā ir mazāka nekā divi zondes platumi
	Normālu signālu modelis (2S, 2Z) — viens sarkans un viens zaļš signāls ir kolokalizēti
	Paredzamais anormālo signālu modelis (1S1Z2F) — sarkana un zaļa fūzijas signāls ir proporcionāli mazāki
	Paredzamais anormālo signālu modelis (1S1Z2F) — kolokalizēti fūzijas signāli
	Paredzamais anormālo signālu modelis (1S1Z2F) — kolokalizēti fūzijas signāli
	Paredzamais anormālo signālu modelis (1S1Z2F) — divi fūzijas signāli blakus viens otram
	Skaitīt kā vienu sarkanu, vienu zaļu un divus fūzijas signālus — viens fūzijas signāls ir difūzs

	Skaitīt kā vienu sarkanu, vienu zaļu un divus fūzijas signālus — atstarpe starp sarkano un zaļo signālu fūzijās ir mazāka nekā divi zondes platumi, kā arī sarkanais un zaļais fūzijas signāls ir proporcionāli mazāki
---	--

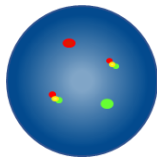
Paredzamie rezultāti

Paredzamais normālu signālu modelis



Normālā šūnā ir paredzami divi sarkani un divi zaļi signāli (2S, 2Z)

Paredzami anormālo signālu modeli



Šūnā ar inv(16)(p13.1;q22) vai t(16;16)(p13.1;q22) paredzamais signālu modelis ir viens sarkans signāls, viens zaļš signāls un divas fūzijas (1S1Z2F).

Citi signālu modeļi ir iespējami aneiploīdos/nelīdzsvarotos paraugos.

Zināmie būtiskie traucējumi/traucējošās vielas

Nav zināmu būtisku traucējumu/traucējošu vielu.

Zināmā krusteniskā reaktivitāte

Nav zināmas krusteniskās reakcijas.

Ziņošana par nopietniem negadījumiem

Pacientam/lietotājam/trešajai personai Eiropas Savienībā un valstīs ar identisku tiesisko regulējumu (Regula (ES) 2017/746 par *In vitro* diagnostikas medicīniskām ierīcēm); ja šīs ierīces lietošanas laikā vai tās lietošanas rezultātā ir noticis nopietns negadījums, lūdzu, ziņojiet par to ražotājam un valsts atbildīgajai iestādei. Attiecībā uz nopietniem negadījumiem citās valstīs, lūdzu, ziņojiet par to ražotājam un, ja paredzēts, savas valsts atbildīgajai iestādei.

Ražotāja uzraudzības kontaktinformācija: vigilance@ogt.com

ES valstu kompetentajām iestādēm kontaktpersonu medicīnas ierīču kontroles jautājumos saraksts ir atrodams šajā vietnē:

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

Specifiskās veikspējas raksturlielumi

Analitiskais specifiskums

Analitiskais specifiskums tiek definēts kā to signālu procentuālā vērtība, kas hibridizējas uz pareizo lokusu un nekādu citu vietu. Katrā no divdesmit metafāzes šūnām no pieciem paraugiem tika analizēti divi hromosomu lokusi, dodot 200 datu punktus. Katras hibridizētās zondes atrašanās vieta ir kartēta, un ir ierakstīts metafāzes hromosomu luminiscētās in situ hibridizācijas (Fluorescence in situ hybridisation — FISH) signālu skaits, kas hibridizējās uz pareizo lokusu.

Katra izstrādājuma analītiskais specifiskums tika aprēķināts kā metafāzes hromosomu FISH signālu skaits, kas hibridizējās uz pareizo lokusu, dalīts ar kopējo metafāzes hromosomu FISH signālu kopējo skaitu; šis rezultāts tika sareizināts ar 100, izteikts kā procentuālā vērtība un dots ar 95 % ticamības intervālu.

1. tabula. Zondes CBFβ (CBFB)/MYH11 Translocation, Dual Fusion Probe analītiskais specifiskums

Mērķis	Hibridizēto metafāzes hromosomu skaits	Pareizi hibridizēto lokusu skaits	Analitiskais specifiskums	95 % ticamības intervāls
16q22	200	200	100 %	98,12–100 %
16p13.1	200	200	100 %	98,12–100 %

Analitiskais jutīgums

Analitiskais jutīgums tiek izteikts kā novērtējumu starpfāzes šūnu ar paredzamu normālo signālu modeli procentuālā vērtība. Visās 25 kaulu smadzeņu paraugos analizēja vismaz 200 starpfāzes paraugi šūnas, iegūstot vismaz 5000 kodolus katram parauga veidam. Jutīguma dati tika analizēti, pamatojoties uz šūnu

procentuālo vērtību, kas parāda parastu paredzamo signālu modeli un tiek izteikti kā procentuālā vērtība ar 95 % ticamības intervālu.

2. tabula. Zondes CBFβ (CBFB)/MYH11 Translocation, Dual Fusion Probe analītiskais jutīgums

Parauga veids	Jutīguma kritēriji	Jutīguma rezultāts
Kaulu smadzenes	>95 %	98,94 % (98,59–99,29 %)

Normai atbilstošu robežvērtību raksturojums

Normai atbilstoša robežvērtība tiek definēta kā to šūnu procentuālā vērtība, kas uzrāda kļūdaini pozitīvu signālu modeli, kurā indivīds tiktu uzskatīts par normalitāti un neatbilstošs klīniskajai diagnozei. Visos 1300 kaulu smadzeņu paraugos analizēja vismaz 200 starpfāzes šūnu, iegūstot ne mazāk kā 260 000 kodolu katram parauga veidam.

Robežvērtība tika noteikta, programmā MS Excel izmantojot β inversijas (BETAINV) funkciju. Tā tika aprēķināta kā starpfāžu šūnu procentuālā vērtība, kas uzrāda kļūdaini pozitīvu signālu modeli, izmantojot binomiālās izplatības vienpusējās 95 % ticamības intervāla augšējo robežu normālā pacienta paraugā.

3. tabula. Zondes CBFβ (CBFB)/MYH11 Translocation, Dual Fusion Probe normai atbilstošu robežvērtību raksturojums

Parauga veids	Robežvērtības rezultāts
Kaulu smadzenes	2,3 %

Laboratorijām jāveic robežvērtību verifikācija, izmantojot savus datus^{4,5}.

Reproducējamība

Reproducējamības pētījumi tika veikti, lai noteiktu:

- Reproducējamība vienā dienā 3 laboratorijās (paraugu līmenis)
- Reproducējamība starp testēšanas dienām 3 laboratorijās (dienas līmenis)
- 3 laboratoriju reproducējamību starp laboratorijām (laboratorijas līmeņa)
- Dažādu partiju reproducējamība vienā laboratorijā (starppartiju)

Reproducējamība tika noteikta trīs atsevišķās laboratorijās, kurās tika testēti seši kodēti paraugi (divi negatīvi attiecībā uz pārkārtojumu, divi nedaudz pozitīvi paraugi, kas 1–3 reizes pārsniedza robežvērtību, un divi augsta līmeņa pozitīvi paraugi, kuros vairāk nekā 45 % šūnu bija pozitīvas attiecībā uz pārkārtojumu). Analīze tika veikta, izmantojot divus katra parauga replikātus piecu neseģīgu dienu laikā.

Visās trīs laboratorijās veica testēšanu vienā dienā, starp testēšanas dienām un starp laboratorijām, izmantojot vienu zonžu partiju, kā arī vienā no laboratorijām tika testēta dažādu partiju reproducējamība, izmantojot trīs atšķirīgas zonžu partijas.

Rezultāti tika pasniegti kā vispārēja konverģence ar prognozētu negatīvo klasi (negatīviem paraugiem) un prognozētu pozitīvu klasi (pozitīviem paraugiem).

4a. tabula. Zondes CBFβ (CBFB)/MYH11 Translocation, Dual Fusion Probe reproducējamība un precizitāte

Mainīgais	Parauga veids	Konverģence
Reproducējamība vienā dienā (paraugu līmenis), starp testēšanas dienām (dienas līmenis) un starp laboratorijām (laboratorijas līmenis)	Kaulu smadzenes, negatīvs	100 %
	Kaulu smadzenes, zema līmeņa pozitīvi paraugi	35 %
	Kaulu smadzenes, augsta līmeņa pozitīvi paraugi	100 %
Starppartiju reproducējamība	Kaulu smadzenes, negatīvs	100 %
	Kaulu smadzenes, zema līmeņa pozitīvi paraugi	33 %
	Kaulu smadzenes, augsta līmeņa pozitīvi paraugi	100 %

Tika veikts papildu reproducējamības pētījums, lai papildinātu zema līmeņa pozitīvu rezultātus, izmantojot divus paraugus ar atšķirīgiem zema līmeņa pozitīviem rezultātiem (2x un 4x pārsniedz robežvērtību).

- Reproducējamība vienā dienā vienā laboratorijā (paraugu līmenis)
- Reproducējamība starp testēšanas dienām vienā laboratorijā (dienas līmenis)
- Reproducējamība ar dažādiem operatoriem vienā laboratorijā (operatora līmenis)

Reproducējamība tika noteikta, izmantojot vienu zondes partiju, kas novērtēta ar diviem katram parauga atkārtojumiem, kurus piecas neseģīgas dienas testēja divi dažādi operatori.

Rezultāti tika pasniegti kā vispārēja konverģence ar prognozētu pozitīvu klasi (pozitīviem paraugiem).

Mainīgais	Parauga veids	Konverģence
Reproducējamība vienā dienā (paraugu līmenis), starp testēšanas dienām (dienas līmenis) un dažādiem operatoriem (operatora līmenis)	Kaulu smadzenes, zema līmeņa pozitīvi paraugi (2x pārsniedz robežvērtību)	100 %
	Kaulu smadzenes, zema līmeņa pozitīvi paraugi (4x pārsniedz robežvērtību)	100 %

Klīniskā veikspēja

Lai nodrošinātu, ka zonde CBFβ (CBFB)/MYH11 Translocation, Dual Fusion Probe nosaka paredzēto pārkārtošanos, klīniskā veikspēja tika noteikta četros (4) pētījumos ar produktam paredzētiem, reprezentatīviem paraugiem, kas ņemti no paredzētās populācijas: 3:1 metanolā/etiķskābē fiksēts materiāls. Šajos pētījumos kopējais izlases lielums bija trīs simti deviņdesmit trīs (393) paraugi, no kuriem kopā divdesmit astoņi (28) paraugi bija pozitīvi un trīs simti sešdesmit pieci (365) paraugi bija negatīvi. Rezultāti tika salīdzināti ar zināmo parauga statusu. Tika konstatēts, ka rezultātu atbilstība/neatbilstība atbilst šā pētījuma akceptēšanas kritērijiem. Šo testu rezultāti tika analizēti, lai nodrošinātu klīnisku jutīgumu, klīnisku specifiskumu un kļūdaini pozitīvo rezultātu rādītāja (false positive rate — FPR) vērtības pozitīviem signāliem, izmantojot viendimensijas pieeju.

5. tabula. Zondes CBFβ (CBFB)/MYH11 Translocation, Dual Fusion Probe klīniskā veikspēja

Mainīgais	Rezultāts
Klīniskais jutīgums (pareizi pozitīvo rezultātu rādītājs (true positive rate, TPR))	98,76 %
Klīniskais specifiskums (pareizi negatīvo rezultātu rādītājs (true negative rate, TNR))	99,52 %
Kļūdaini pozitīvo rezultātu rādītājs (false positive rate, FPR) = 1 – specifiskums*	0,48 %

Drošuma un veikspējas kopsavilkums (Summary of Safety and Performance — SSP)

SSP jābūt publiski pieejamam, izmantojot Eiropas medicīnisko ierīču datubāzi (Eudamed), kur tas ir saistīts ar pamata UDI-DI.

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

Pamata UDI-DI: 50558449LPH022J9

Ja Eudamed nedarbojas pilnībā, SSP ir publiski pieejams pēc pieprasījuma pa e-pastu SSP@ogt.com.

Papildinformācija

Lai saņemtu papildinformāciju par produktu, sazinieties ar CytoCell tehniskā atbalsta nodaļu.

Tālr.: +44 (0)1223 294048




E-pasta adrese: techsupport@cytozell.com












Tīmekļa vietne: www.ogt.com

Atsauces

- 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>
- Döhner, et al. *Blood*. 2022;140(122):1345-1377.
- Arsham, MS., Barch, MJ. and Lawce HJ. (eds.) (2017) *The AGT Cytogenetics Laboratory Manual*. New Jersey: John Wiley & Sons Inc.
- 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.
- 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.

Simbolu vārdnīca

EN ISO 15223-1:2021 — “Medicīniskās ierīces — simboli, kas jāizmanto kopā ar ražotāja nodrošināto informāciju. 1. daļa. Vispārīgas prasības” (© International Organization for Standardization)		
Simbols	Nosaukums	Atsauces numurs(-i)
	Iv: Ražotājs	5.1.1.
	Iv: Pilnvarotais pārstāvis Eiropas Kopienā/Eiropas Savienībā	5.1.2.
	Iv: Derīguma termiņš	5.1.4.

	Iv: Partijas kods	5.1.5.
	Iv: Kataloga numurs	5.1.6.
	Iv: Sargājiet no tiešiem saules stariem	5.3.2.
	Iv: Temperatūras ierobežojums	5.3.7.
	Iv: Skatīt lietošanas instrukciju	5.4.3.
 ogt.com/IFU	Iv: Skatīt elektronisko lietošanas instrukciju	5.4.3.
	Iv: Uzmanību!	5.4.4.
	Iv: <i>In vitro</i> diagnostikas medicīniskā ierīce	5.5.1.
	Iv: Saturs ir pietiekams <n> testiem	5.5.5.
	Iv: Unikālais ierīces identifikators	5.7.10.
EDMA simboli IVD reaģentiem un komponentiem, 2009. gada oktobra redakcija		
Simbols	Nosaukums	Atsauces numurs(-i)
	Iv: Sastāvs (vai saturs)	N/p

Patenti un preču zīmes

CytoCell ir reģistrēta CytoCell Limited preču zīme.



CytoCell Limited
Oxford Gene Technology
418 Cambridge Science Park
Milton Road
CAMBRIDGE
CB4 0PZ
APVIENOTĀ KARALISTE

Tālr.: +44 (0)1223 294048
Fakss: +44 (0)1223 294986
E-pasta adrese: probes@cytozell.com
Tīmekļa vietne: www.ogt.com



Sysmex Europe SE
Bombarch 1
22848 Norderstedt
VÄCIJA

Tālr.: +49 40 527260
Tīmekļa vietne: www.sysmex-europe.com

Lietošanas instrukcijas variantu vēsture

V001 2023-10-09: Jauna lietošanas instrukcija atbilstoši Regulai (ES) 2017/746.