



A Sysmex Group Company



Návod k použití (IFU)

REF: CE-LPH 027-S / CE-LPH 027

AML1 (RUNX1) Breakapart Probe



POUZE K PROFESIONÁLNÍMU POUŽITÍ



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

Zamýšlený účel

Sonda CytoCell® AML1 (RUNX1) Breakapart Probe je kvalitativní, neautomatizovaný, fluorescenční *in situ* hybridizační test (FISH) používaný k detekci chromozomálních přeskupení v oblasti 21q22.1 na chromozomu 21 v hematologicky získaných buněčných suspenzích fixovaných v Carnoyově roztoku (3 : 1 metanol / kyselina octová) od pacientů s potvrzenou nebo předpokládanou akutní myeloidní leukémií (AML) nebo akutní lymfoblastickou leukémií (ALL).

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 přeskupení *AML1 (RUNX1)* byla důležitá pro klinickou léčbu.

Omezení

Tento prostředek je navržen tak, aby detekoval přeskupení s body zlomu v oblasti vymezené červenými a zelenými kopiemi v této sadě sond, což zahrnuje oblast *AML1 (RUNX1)*. Body zlomu mimo tuto oblast nebo variantní přeskupení, plně obsažená v této oblasti, nemusí být tímto prostředkem detekována. Díky rozptýlené oblasti bodů zlomu mohou uživatelé u některých přeskupení u akutní lymfoblastické leukémie (ALL) pozorovat různé vzorce signálu.

Tento prostředek není určen k použití v rámci samostatné diagnostiky, doprovodné diagnostiky, prenatálního testování, skríningu populace, testování přímo u pacientů nebo 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 pouze 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 sekvenční DNA na metafázových chromozomech nebo v interfázových jádrech z fixovaných cytogenetických vzorků. Tato technika využívá sondy DNA, které hybridizují na celé chromozomy nebo na jednotlivé jedinečné sekvenční, a slouží jako důležitý doplněk cytogenetické analýzy pomocí G-pruhování. Tuto techniku je nyní možno aplikovat jako základní vyšetřovací nástroj při prenatálním a hematologickém vyšetření a při chromozomální analýze solidního tumoru. 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 pro účely vizualizace. Fluorescenční mikroskopie potom umožňuje vizualizaci hybridizované sondy na cílovém materiálu.

Informace o sondě

Gen *RUNX1* (transkripční faktor 1 skupiny *RUNX*) na 21q22.1 je jedním z nejčastějších cílů chromozomálních přeskupení zjištěných u akutní leukémie u lidí.

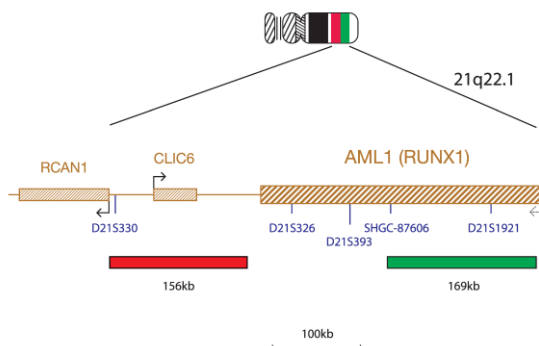
Nejběžnějšími přeskupeními jsou fúze *ETV6::RUNX1* a *RUNX1::RUNX1T1*. Fúze *ETV6::RUNX1* je způsobena translokací $t(12;21)(p13.2;q22.1)$ zjištěnou asi u 21 % případů B-buněčné akutní lymfoblastické leukémie (ALL) u dětí¹, zatímco fúze *RUNX1::RUNX1T1* je výsledkem translokace $t(8;21)(q21.3;q22.1)$ zjištěné u 10–22 % pacientů s akutní myeloidní leukémií (AML) FAB (francouzsko-americko-britská klasifikace) typu M2 a u 5–10 % případů AML celkem^{2,3}. Obě tato přeskupení jsou u těchto onemocnění považována za prognosticky dobré indikátory^{4,5}.

Gen *RUNX1* je také přeskupen v mnoha dalších vzácných translokacích, s partnery zahrnujícími chromozomy 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 9, 10, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20 a X⁶. Tato zlomová sonda je navržena tak, aby umožnila detekci přeskupení bez ohledu na partnerský gen.

Parametry sondy

AML1, 21q22.1, červená
AML1, 21q22.1, zelená

CMP-H003 V007.00



Směs sond *AML1* se skládá z červeně označené sondy o délce 156 kb, centromerické ke genu *AML1 (RUNX1)*, která zahrnuje gen *CLIC6*, a zeleně označené sondy o délce 169 kb, pokrývající část genu *AML1 (RUNX1)*, včetně markerů *SHGC-87606* a *D21S1921*.

Dodaný materiál

Sonda: 50 µl v jedné lahvičce (5 testů) nebo 100 µl v jedné lahvičce (10 testů)

Sondy jsou dodávány předem smíchané v hybridizačním roztoku (<65 % formamid; <20 mg dextran sulfát; <10 % 20x solného roztoku citrátů 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

- Pro diagnostické použití *in vitro*. Výhradně k laboratornímu profesionálnímu použití.
- Směsi v sondách obsahují formamid, což je teratogen; nevdechujte výpary a zamezte kontaktu s pokožkou. Zacházejte s ním opatrně; noste rukavice a laboratorní plášť.
- Zacházejte s DAPI opatrně; noste rukavice a laboratorní plášť.
- Nepoužívejte, pokud jsou lahvičky poškozeny nebo je obsah lahvičky jakkoli znehodnocen.
- 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.
- Všechny použité reagentie a další kontaminované materiály na jedno použití zlikvidujte podle postupů pro infekční nebo potenciálně infekční odpad. Každá laboratoř je odpovědná 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.
- Pracovníci musí být schopni rozlišit červenou, modrou a zelenou barvu.
- Nedodržení předepsaného protokolu a reagentií může ovlivnit funkci a vést k falešně pozitivním/negativním výsledkům.
- Sonda se nesmí fedit ani míchat s jinými sondami.
- Není-li během kroku predenaturace v rámci protokolu použito 10 µl sondy, může to ovlivnit funkci a vést k falešně pozitivním/negativním výsledkům.
- Všechny produkty by měly být před použitím validovány.
- Interní kontroly by měly být prováděny pomocí nedotčených buněčných populací v testovacích vzorcích.

Definice teploty

- -20 °C / zmražené / v mrazničce: -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 mrazničce 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 50 µl (5 testů) lahvičku sondy FISH, 10 cyklů pro 100 µl (10 testů) lahvičku sondy FISH a 15 cyklů pro 150 µl (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 podle očekávání a mohou nepříznivě ovlivnit výsledky testu. Je třeba vynaložit veškeré úsilí na omezení expozice světlu a teplotním změnám.

Potřebné vybavení a materiál, 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 různým 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 ohledně fluorescenčního 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 odstředivka
13. Mikroskopová sklička
14. Krycí sklička 24 × 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 fyziologický roztok citrátů sodného (SSC)
2. 100 % etanol
3. Tween-20
4. 1M hydroxid sodný (NaOH)
5. 1M kyselina chlorovodíková (HCl)
6. Demineralizovaná voda

Doporučení ohledně fluorescenčního mikroskopu

Pro optimální vizualizaci použijte 100wattovou rtuťovou lampu nebo její ekvivalent 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]
Zelená	495	521
Červená	596	615

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 připravený pro nízkou autofluorescenci. Dbejte na to, 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 pro použití u hematologicky získaných buněčných suspenzí fixovaných v Carnoyově roztoku (3 : 1 metanol / kyselina octová), které jsou připraveny v souladu s pokyny laboratoře nebo zdravotnického zařízení. Na mikroskopová 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 sklíček⁷.

Příprava roztoků

Etanolvé roztoky

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

- 70 % etanol – 7 dílů 100 % etanolu na 3 díly demineralizované vody
 - 85 % etanol – 8,5 dílů 100 % etanolu na 1,5 díly 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 pomocí NaOH nebo HCl podle potřeby upravte 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 pomocí NaOH nebo HCl podle potřeby upravte 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 pomocí NaOH nebo HCl podle potřeby upravte na pH 7,0. Roztok skladujte ve vzduchotěsné nádobě při pokojové teplotě po dobu až 4 týdnů.

Protokol FISH

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

Příprava sklička

1. Naneste buněčný vzorek na mikroskopové skličko. Nechte ho uschnout. (**Volitelně při použití cytogenetické sušicí komory:** K optimálnímu nanesení buněčných vzorků by měla komora pracovat při teplotě přibližně 25 °C a 50 % vlhkosti. Pokud cytogenetickou sušicí komoru nemáte, použijte jako alternativu digestoř.)
2. Skličko ponořte na 2 minuty do roztoku 2xSSC při pokojové teplotě. Neprotřepávejte.
3. Dehydratujte pomocí etanolvé série (70 %, 85 % a 100 %), vždy po dobu 2 minut při pokojové teplotě.
4. Nechte ho uschnout.

Predenaturace

5. Vyjměte sondu z mrazničky a nechte ji zahřát na pokojovou teplotu. Laboratorní lahvičky před použitím krátce odstředte.
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 mrazničky.
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 uschnout.

Denaturace

10. Zahříváním 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 zahřát 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 DAPI antifade.
17. Přikryjte krycím skličkem, odstraňte veškeré bubliny, uložte do temna a po dobu 10 minut nechte vyvíjet barvu.
18. Zkontrolujte pomocí fluorescenčního mikroskopu (viz **Doporučení ohledně fluorescenčního mikroskopu**).

Doporučení pro zpracování

1. Vypalování nebo stárnutí sklíček může redukovat fluorescenční signál.
2. Podmínky hybridizace mohou být nepříznivě ovlivněny použitím reagentií, které nedodává nebo nedoporučuje společnost 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 teplota jsou důležité, protože nedostatečná důslednost může vést k nespecifickému vázání sondy a přílišná důslednost naopak k nedostatečnému signálu.
5. Neúplná denaturace může vést k nedostatečnému signálu a příliš dlouhá denaturace může rovněž způsobit nespecifické vázání.
6. Nadměrná hybridizace může vést k dodatečným nebo neočekávaným signálům.

7. Uživatelé musejí před použitím testu pro diagnostické účely optimalizovat protokol pro své vlastní vzorky.
8. Neoptimální podmínky mohou vést k nespecifickému vázání, které může být nesprávně interpretováno jako signál sondy.

Interpretace výsledků

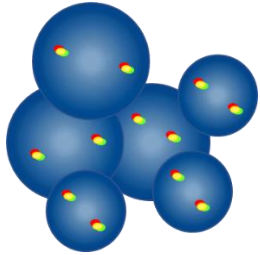
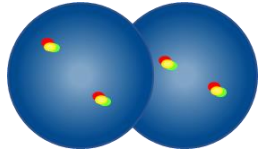
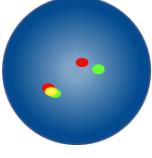
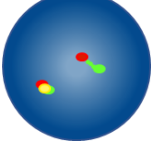
Vyhodnocení kvality sklíčka

Sklíčko by se nemělo analyzovat, jestliže:

- jsou signály příliš slabé a nelze je proto analyzovat jednoduchými filtry – pro pokračování v analýze musejí 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 sklíček by mělo být pozadí tmavé nebo černé a čiré;
- není možné rozlišit hranice buněčných jader a hranice nejsou nepoškozené.

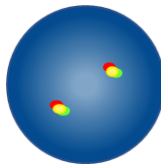
Pokyny pro analýzu

- 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 cytoplazmatickým odpadem či jádra s vysokým stupněm autofluorescence.
- Vyhnete 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, nebo pokud dva signály spojuje slabý pruh, počítejte je jako jeden signál.
- Pokud při analýze dvoubarevných zlomových sond není mezera mezi červeným a zeleným signálem větší než 2 šířky signálu, počítejte to jako nepřeskupený/fúzní signál.
- Pokud není při analýze tříbarevných zlomových sond mezi kterýmkoli ze 3 signálů (červený, zelený, modrý) mezera větší než 2 signály na šířku, počítejte to jako nepřeskupený/fúzní 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 – všechny oblasti obou jader nejsou viditelné
	Počítejte jako dva fúzní signály – mezera mezi červeným a zeleným signálem je menší než dvě šířky signálu
	Počítejte jako dva fúzní signály – jeden fúzní signál je difúzní

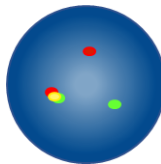
Předpokládané výsledky

Předpokládaný vzorec normálního signálu



U normální buňky se předpokládají dva červené/zelené fúzní signály (2F).

Předpokládané vzorce abnormálního signálu



V buňce s vyváženým přeskupením *AML1 (RUNX1)* se předpokládá jeden červený, jeden zelený a jeden fúzní signál (1Č1Z1F).

U aneuploidních/nevyvážených vzorků jsou možné jiné vzory signálů.

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, nahlasejte ji výrobci a svému příslušnému národnímu orgánu.

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

Kontaktní osoba pro vigilanci výrobce: vigilance@ogt.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 specifická

Analytická specifická je definována jako procento signálů, které hybridizují do správného lokusu a na žádné jiné místo. Byly analyzovány čtyři chromozomální lokusy v každé z dvaceti metafázových buněk z pěti vzorků, což znamená celkem 400 datových bodů. Bylo zmapováno umístění všech hybridizovaných sond a byl zaznamenán počet FISH signálů metafázových chromozomů hybridizovaných na správný lokus.

Analytická specifická jednotlivých sond v sadě byla vypočtena jako počet signálů FISH metafázového chromozomu hybridizovaných na správný lokus vydělený celkovým počtem hybridizovaných FISH signálů metafázového chromozomu, tento výsledek byl vynásoben číslem 100 a vyjádřen jako procento s intervalem spolehlivosti 95 %.

Tabulka 1. Analytická specifická sondy *AML1 (RUNX1) Breakpart Probe*

Cíl	Počet hybridizovaných metafázových chromozomů	Počet správně hybridizovaných lokusů	Analytická specifická	Interval spolehlivosti 95 %
21q22.1	200	200	100 %	98,12–100 %
21q22.1	200	200	100 %	98,12–100 %

Analytická citlivost

Analytická citlivost je procento započítatelných interfázových buněk s předpokládaným vzorcem normálního signálu. Byly použity údaje z analýzy 25 vzorků karyotypově normální kostní dřeně fixované v Carnoyově roztoku (3 : 1 metanol / kyselina octová), které byly považovány za negativní na přeskupení *AML1 (RUNX1)*. Každý vzorek byl analyzován 2 nezávislými analytiky a byl zaznamenán vzor signálu každé interfáze. Každý analytik analyzoval 100 jader v každém vzorku, celkem tedy 200 jader na vzorek, což v součtu činí 5 000 analyzovatelných jader pro tento produkt. Byly analyzovány údaje o citlivosti na základě procenta buněk vykazujících normální předpokládaný signální vzorec, a byly vyjádřeny jako procento s 95 % intervalem spolehlivosti.

Tabulka 2. Analytická citlivost sondy AML1 (RUNX1) Breakapart Probe

Typ vzorku	Kritéria citlivosti	Výsledek citlivosti
Kostní dřeň	>95 %	99,48 % (99,29–99,67 %)

Charakteristika normálních mezních hodnot

Normální mezní data jsou definována jako procento buněk vykazujících falešně pozitivní signální vzorec, při němž by hodnota u pacienta byla považována za normální a neodpovídala klinické diagnóze. U každé z 25 fixovaných buněčných suspenzí z kostní dřeně, bylo analyzováno minimálně 200 interfázních buněk, což pro každý typ vzorku znamenalo minimálně 5 000 hodnocených jader.

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

Tabulka 3. Charakteristika normálních mezních hodnot AML1 (RUNX1) Breakapart Probe

Typ vzorku	Mezní výsledek
Kostní dřeň	3,5 %

Laboratoře si musí ověřit mezní hodnoty pomocí vlastních dat^{8,9}.

Přesnost

Byla měřena přesnost tohoto produktu pokud jde o přesnost v rámci jednoho dne (mezi vzorky), přesnost v různých dnech (mezi dny) a přesnost v rámci různých šarží na jednom pracovišti (mezi šaržemi).

K hodnocení přesnosti produktu byly použity dva vzorky: normální kostní dřeň a uměle vytvořený vzorek kostní dřeně s nízkou pozitivitou (2–4× vyšší, než je mezní hodnota produktu, vytvořený tak, že se do normálního vzorku kostní dřeně přidal známý pozitivní vzorek), který byl použit, aby byl produkt zpochybněn v oblasti stanovených mezních hodnot.

Pro stanovení přesnosti v rámci různých dnů / v rámci jednoho dne byly vzorky hodnoceny v rozmezí 10 dnů, které nenásledovaly po sobě; pro stanovení přesnosti mezi šaržemi byly hodnoceny tři šarže produktu v rámci tří opakování stejných vzorků. Výsledky byly prezentovány jako všeobecná shoda s předpovídanou negativní klasifikací (u negativních vzorků).

Tabulka 4. Reprodukovatelnost a přesnost AML1 (RUNX1) Breakapart Probe

Variabilní	Typ vzorku	Shoda
Reprodukovatelnost v rámci jednoho dne (mezi vzorky) a v různých dnech (mezi dny)	Negativní kostní dřeň	100 %
	Kostní dřeň s nízkou pozitivitou	100 %
Reprodukovatelnost mezi šaržemi	Negativní kostní dřeň	100 %
	Kostní dřeň s nízkou pozitivitou	100 %

Klinická funkce

Aby bylo zajištěno, že produkt odhalí záměrná přeskupení, byla pro tento produkt stanovena pomocí dvou studií klinická funkce na reprezentativních vzorcích určené populace: vzorky hematologicky získaného materiálu fixované metanolem / kyselinou octovou v poměru 3 : 1. Studie zahrnují kombinovaný soubor sto osmnácti (118) vzorků, z nichž dvanáct (12) bylo pozitivních a sto šest (106) negativních ve všech laboratořích. Pozitivita každého vzorku byla potvrzena buď pomocí srovnávací komerční sondy uváděné na trh konkurenčním výrobcem, která detekuje stejné abnormality jako hodnocené sondy, nebo porovnáním s karyotypem G-pruhování.

Výsledky těchto testů byly analyzovány, aby poskytl hodnoty klinické citlivosti, klinické specifity a míru falešné positivity (FPR) pozitivních signálů pomocí jednodimenzního přístupu.

Tabulka 5. Klinická funkce AML1 (RUNX1) Breakapart Probe

Variabilní	Výsledek
Klinická senzitivita (míra skutečné positivity, TPR)	100,00 %
Klinická specifita (míra skutečné negativity, TNR)	100,00 %
Míra falešné positivity (FPR) = 1–specifičnost	0,00 %

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: 50558449LPH027JK

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: techsupport@cytozell.com

W: www.ogt.com

Reference

- Jamil A *et al.*, Cancer Genet Cytogenet 2000;122(2):73-8
- Swerdlow *et al.*, (eds.) WHO Classification of Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissue, Lyon, France, 4th edition, IARC, 2017
- Reikvam H, *et al.*, J Biomed Biotechnol. 2011; 2011:104631.
- Shurtleff *et al.*, Leukemia. 1995 Dec;9(12):1985-9
- Cho *et al.*, Korean J Intern Med. 2003 Mar;18(1):13-20
- De Braekeleer *et al.*, Anticancer Research 2009;29(4):1031-1038
- 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 DLV, 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–Symboly, které se budou používat s informacemi, dodá výrobce– Část 1: Všeobecné požadavky“ (© International Organization for Standardization (Mezinárodní organizace pro normalizaci))		
Symbol	Název	Referenční číslo/čísla
	cs: Výrobce	5.1.1
	cs: Zplnomocněný zástupce v Evropském společenství / Evropské unii	5.2.1
	cs: Datum spotřeby	5.4.1
	cs: Kód šarže	5.5.1
	cs: Katalogové číslo	5.6.1
	cs: Chraňte před slunečním světlem	5.3.2
	cs: Omezení teploty	5.3.7
	cs: Viz návod k použití	5.4.3
	cs: Přečtěte si elektronický návod k použití	5.4.3
	cs: Upozornění	5.4.4
	cs: In vitro zdravotnický diagnostický prostředek	5.5.1
	cs: Množství dostačuje k provedení <n> testů	5.5.5
	cs: Jedinečný identifikátor prostředku	5.7.10
Symboly EDMA pro IVD reagentie 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: probes@cytoCell.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 2023-01-25: Nový IFU z důvodu nařízení (EU) 2017/746.