



A Sysmex Group Company



Návod k použití (IFU)

REF: CE-LPH 052-S / CE-LPH 052

Sonda P53 (TP53)/ATM Combination Deletion Probe



POUZE K PROFESIONÁLNÍMU POUŽITÍ



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

Zamýšlený účel

Kombinovaná deleční sonda CytoCell® P53 (TP53)/ATM Combination Deletion Probe představuje kvalitativní, neautomatizovaný, fluorescenční *in situ* hybridizační test (FISH) používaný k detekci chromozomálních delecí v oblasti 11q22.3 na chromozomu 11 a v oblasti 17p13 na chromozomu 17 v hematologicky získaných buněčných suspenzích fixovaných v Carnoyově roztoku (směs metanolu a kyseliny octové v poměru 3 : 1) od pacientů s potvrzenou nebo suspektní chronickou lymfocytickou leukémií (CLL).

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 delece P53 (TP53) nebo ATM byla důležitá pro klinickou léčbu.

Omezení

Tento prostředek je navržen tak, aby detekoval genomové ztráty, které jsou větší než oblast pokrytá červenými a zelenými klony v této sadě sond, což zahrnuje oblasti TP53 a ATM. Genomové ztráty mimo tuto oblast nebo částečné ztráty této oblasti nemusejí být tímto prostředkem detekovány.

Tento prostředek není určen k použití v rámci samostatné diagnostiky, doprovodné diagnostiky, k prenatálnímu testování, skríningu populace, testování přímo u pacientů ani k provádění samotestování.

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 metafázových 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 prenatálním a hematologickém vyšetření a při chromozomální analýze solidních tumorů. 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.

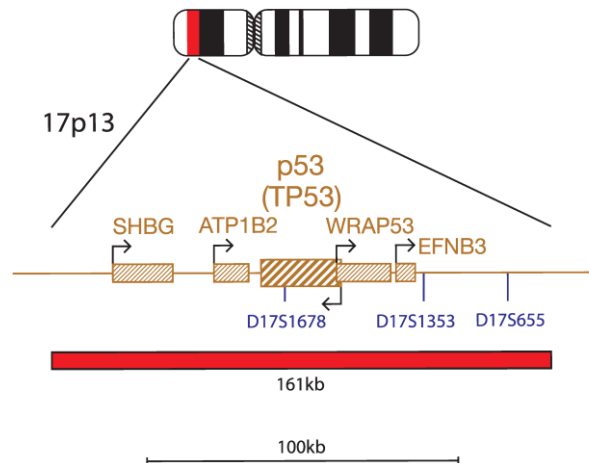
Informace o sondě

Tumor supresorový gen TP53 (tumor protein p53) na 17p13 a proteinkinázový gen ATM (ATM serin/threonin kináza) na 11q22.3 jsou v případech chronické lymfocytické leukémie (CLL) často deletovány. Gen TP53 je důležitý tumor supresorový gen; chová se jako silný transkripční faktor se zásadní rolí při udržování genetické stability.¹ Ztráta TP53 se udává u 5–10 % pacientů s CLL a představuje nepříznivý prognostický biomarker, který předpovídá rezistenci na chemoterapii^{2,3,4}. ATM je důležitým kontrolním genem odpovědným za řízení poškození buněk⁵. Ztráta ATM se udává u 10–20 % pacientů s CLL². Delece 11q a 17p jsou dvě nejčastější chromozomální aberace u CLL; del(11q) odstraňuje ATM, zatímco del(17p) vede ke ztrátě TP53⁴.

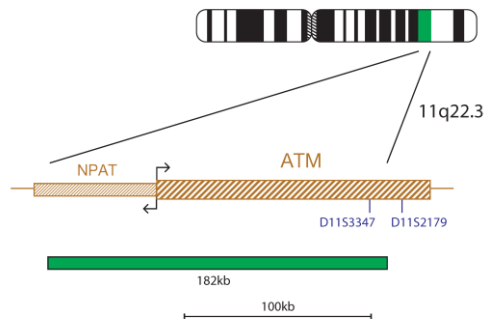
Parametry sondy

P53, 17p13, červené
ATM, 11q22.3, zelené

CMP-H040 V005.00



CMP-H041 v005.00



Složka P53 se skládá ze sondy o délce 161 kb, označené červeně, která pokrývá celý gen P53 (TP53) a přiléhající oblasti. Složka ATM se skládá ze sondy o délce 182 kb, označené zeleně, která pokrývá telomerický konec genu NPAT a centromerický konec genu ATM až za marker D11S3347.

Dodání materiál

Sonda: 50 µl v jedné lahvičce (5 testů) nebo 100 µl v jedné lahvičce (10 testů)
Sonda se dodává předem smíchané v hybridizačním roztoku (< 65 % formamidu; < 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-fenylnindol) 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; nevdechujte výpary a zamezte kontaktu s pokožkou. Zacházejte s ním 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 reagenty a další kontaminované materiály na jedno použití zlikvidujte podle 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 reagencií může ovlivnit funkci a vést k falešně pozitivním/negativním výsledkům.
9. Sonda se nesmí ředit 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: +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 lahvičku (5 testů) sondy FISH, 10 cyklů pro 100µl lahvičku (10 testů) sondy FISH a 15 cyklů pro 150µl lahvičku (15 testů) 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 plotýnkou 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 odstředivka
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% etanol
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:

Fluorofór	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 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 (směs metanolu a kyseliny octové v poměru 3 : 1)

od pacientů s potvrzenou nebo suspektní chronickou lymfocytární leukémií (CLL), 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 sklíček⁶.

Příprava roztoků

Etanolové roztoky

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

Pre-denaturace

5. Vyjměte sondu z mrazáku a nechte ji zahřát na pokojovou teplotu. Zkumavky 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 mrazáku.
8. Sondu a skličko se vzorkem umístěte na varnou desku a předehevívejte 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. 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 mrazáku 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 reagentů, které nejsou dodány nebo doporučeny společností CytoCELL Ltd.
3. K měření teplot roztoků, vodních lázní a inkubátorů používejte kalibrovaný teploměr, jelikož 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 signálu.
5. Neúplná denaturace může vést k nedostatečnému signálu a příliš dlouhá denaturace může rovněž způsobit nespecifické vázání.
6. Nadměrná hybridizace může způsobit dodatečné nebo neočekávané signály.
7. Před použitím testu k diagnostickým účelům musí uživatelé optimalizovat protokol pro své vlastní vzorky.
8. Neoptimální podmínky mohou vést k nespecifickému vázání, které může být nesprávně interpretováno jako signál sondy.

Interpretace výsledků

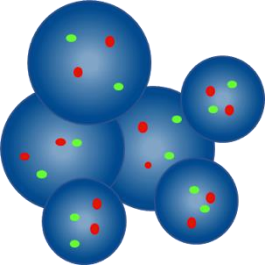
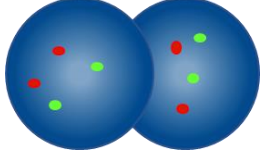
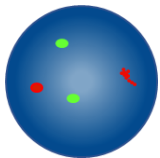
Vyhodnocení kvality sklíčka

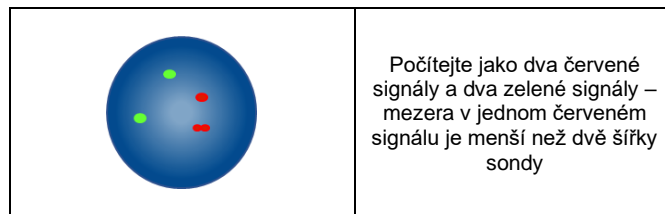
Sklíčko by se nemělo analyzovat, jestliže:

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

Pokyny pro analýzu

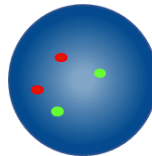
- Každý vzorek musí analyzovat a vyhodnotit dva analytici. Jakékoliv nesrovnalosti se musí vyřešit hodnocením třetího analytika
- Všichni analytici musí mít odpovídající kvalifikaci v souladu s uznávanými národními standardy
- Všichni analytici musí provést nezávislé hodnocení 100 jader každého vzorku. 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 cytoplazmatickým odpadem 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
	Počítejte jako dva červené signály a dva zelené signály – jeden ze dvou červených signálů je difúzní



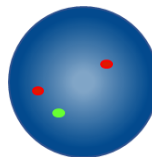
Předpokládané výsledky

Předpokládaný normální vzor signálu

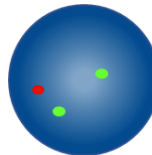


U normální buňky se předpokládají dva červené a dva zelené signály (2Č2Z).

Předpokládané abnormální vzory signálu



V buňce s delecí *ATM* se předpokládají dva červené signály a jeden zelený signál (2Č1Z).



V buňce s delecí *TP53* se předpokládá jeden červený signál a dva zelené signály (1Č2Z).

U aneuploidních/nevyvážených vzorků jsou možné jiné vzory signálů.

Známé relevantní interference / interferující látky

Nejsou známy žádné relevantní interference / interferující látky.

Známá 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@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 loku a na žádné jiné místo. Byly analyzovány čtyři (4) chromozomální lokusy v každé z dvaceti (20) metafázových buněk z každého z pěti (5) vzorků buněk získaných z periferní krve karyotypově normálních mužů a fixovaných směsí metanolu a kyseliny octové (poměr 3 : 1), čímž bylo získáno 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 kombinované deleční sondy P53 (TP53)/ATM Combination Deletion Probe

Cíl	Počet hybridizovaných metafázových chromozomů	Počet správně hybridizovaných lokusů	Analytická specifická	Interval spolehlivosti 95 %
17p13	200	200	100 %	98,12 % – 100 %
11q22.3	200	200	100 %	98,12 % – 100 %

Analytická citlivost

Analytická citlivost je procento započítatelných interfázních buněk s předpokládaným normálním vzorem signálu. U každé z 25 fixovaných buněčných suspenzí z kostní dřeně, které byly považovány za negativní na delecí TP53 nebo ATM, bylo analyzováno minimálně 200 interfázových buněk, což pro každý typ vzorku znamenalo minimálně 5 000 hodnocených jader. Byly analyzovány údaje o citlivosti na základě procenta buněk vykazujících normální předpokládaný vzor signálu, a byly vyjádřeny jako procento s 95% intervalem spolehlivosti.

Tabulka 2. Analytická citlivost kombinované deleční sondy P53 (TP53)/ATM Combination Deletion Probe

Typ vzorku	Kritéria citlivosti	Výsledek citlivosti
Kostní dřeň	> 95 %	96,32 % (95,59 % – 97,05 %)

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 každé z 25 fixovaných buněčných suspenzí z kostní dřeně, které byly považovány za negativní na delecí TP53 nebo ATM, bylo analyzováno minimálně 200 interfázových buněk, což pro každý typ vzorku znamenalo minimálně 5 000 hodnocených jader.

Mezní hodnota byla určena pomocí funkce β -inverse (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 vzorku normálního pacienta.

Tabulka 3. Charakteristika normálních mezních hodnot deleční kombinované sondy P53 (TP53)/ATM Combination Deletion Probe

Typ vzorku	Vzor signálu	Mezní výsledek
Kostní dřeň	2Č1Z	3,78 %
	1Č2Z	8,97 %

Laboratoře si musí ověřit mezní hodnoty za použití vlastních dat^{7,8}.

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 posouzení přesnosti tohoto produktu byly použity tři (3) vzorky: jeden vzorek normální kostní dřeně (před použitím ve studii byl pomocí metody FISH prokázán jako negativní na delecí TP53 i ATM), jeden vzorek kostní dřeně s delecí ATM s nízkým pozitivním signálem 2Č1Z a jeden vzorek kostní dřeně s delecí TP53 s nízkým pozitivním signálem 1Č2Z. Všechny vzorky kostní dřeně s nízkou pozitivitou byly vytvořeny tak, že se použila část negativního vzorku kostní dřeně, ke které se přidal známý pozitivní vzorek kostní dřeně s cílem vytvořit nízkou pozitivní vzorek v rozmezí 2- až 4násobku mezní hodnoty a otestovat sondu v oblasti kolem stanovených mezních hodnot.

Pro stanovení přesnosti v rámci různých dnů a v rámci jednoho dne byly vzorky hodnoceny v rozmezí deseti (10) dnů, které nenásledovaly po sobě; pro stanovení přesnosti mezi šaržemi byly hodnoceny tři (3) šarže produktu v rámci tří (3) opakování stejných vzorků. Výsledky byly prezentovány jako všeobecná shoda s předpokládanou negativní klasifikací (u negativních vzorků).

Tabulka 4. Reprodukovatelnost a přesnost kombinované deleční sondy P53 (TP53)/ATM Combination Deletion Probe

Proměnná	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, signál 2Č1Z (delece ATM)	96,7 %
	Kostní dřeň s nízkou pozitivitou, signál 1Č2Z (delece TP53)	100 %
Reprodukovatelnost mezi šaržemi	Negativní kostní dřeň	100 %
	Kostní dřeň s nízkou pozitivitou, signál 2Č1Z (delece ATM)	88,9 %
	Kostní dřeň s nízkou pozitivitou, signál 1Č2Z (delece TP53)	100 %

Klinická funkce

Aby bylo zajištěno, že produkt odhalí záměrné delece, byla pro tento produkt stanovena klinická funkce pomocí jedné (1) studie na reprezentativních vzorcích určené populace: Buněčné suspenze hematologicky získané od pacientů

s potvrzenou nebo suspektní chronickou lymfocytární leukémií (CLL) byly fixovány v Carnoyově roztoku (směs metanolu a kyseliny octové v poměru 3 : 1). Velikost vzorku pro studii byla třicet (30) vzorků, přičemž cílovou populaci tvořilo jedenáct (11) pozitivních a devatenáct (19) negativních vzorků, pokud jde o delecí ATM, a jedenáct (11) pozitivních a devatenáct (19) negativních vzorků, pokud jde o delecí TP53. Všechny vzorky byly deidentifikovány a výsledky byly porovnány se známým stavem vzorku. Sonda správně určila stav vzorků ve všech případech.

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

Tabulka 5. Klinická funkce kombinované deleční sondy P53 (TP53)/ATM Combination Deletion Probe – delece ATM

Proměnná	Výsledek
Klinická senzitivita (míra skutečné positivity, TPR)	99,93 %
Klinická specifická (míra skutečné negativity, TNR)	99,99 %
Míra falešné positivity (FPR) = 1 – specifická	0,01 %

Tabulka 6. Klinická funkce kombinované deleční sondy P53 (TP53)/ATM Combination Deletion Probe – delece TP53

Proměnná	Výsledek
Klinická senzitivita (míra skutečné positivity, TPR)	100,0 %
Klinická specifická (míra skutečné negativity, TNR)	100,0 %
Míra falešné positivity (FPR) = 1 – specifická	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: 50558449LPH052JJ

Pokud není systém Eudamed plně funkční, musí být dokument 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


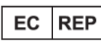

E-mail: techsupport@cytoCELL.com











W: www.ogt.com

Reference

- Dohner, et al. N Eng J Med. 2000;343:1910-1916.
- Rossi D, et al. Blood. 2013 Feb 21;121(8):1403-12.
- Baliakas P, et al. Leukemia. 2014;(April):1-8.
- 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 December 18]. (WHO classification of tumours series, 5th ed.; vol. 11). Available from: <https://tumourclassification.iarc.who.int/chapters/63>
- Stankovic, et al., Blood. 2004;103(1):291-300.
- 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, Van 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 používané s informacemi poskytovanými 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
 ogt.com/IFU	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 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-mail: 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 2024-01-08: Nový IFU z důvodu nařízení (EU) 2017/746.