



A Sysmex Group Company



Instrucțiuni de utilizare (IFU)

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

CBFβ (CBFB)/MYH11 Translocation, Dual Fusion Probe



NUMAI PENTRU UTILIZARE PROFESIONALĂ



Informații suplimentare și în alte limbi sunt disponibile pe ogt.com/IFU

Destinație de utilizare

CytoCell® CBFβ (CBFB)/MYH11 Translocation, Dual Fusion probe este un test calitativ, ne-automatizat de hibridizare fluorescență *in situ* (FISH), utilizat pentru detecția rearanjamentelor cromozomiale între regiunea 16p13.1 a cromozomului 16 și regiunea 16q22 a cromozomului 16 în suspensii de celule de origine hematologică, fixate în soluție Carnoy (metanol/acid acetic 3:1), de la pacienți cu diagnostic suspectat sau confirmat de leucemie acută mieloidă (LAM).

Indicații de utilizare

Acest dispozitiv este conceput pentru a fi utilizat complementar la alte teste clinice și histopatologice în cadrul algoritmilor stabiliți de diagnostic și tratament în situațiile în care cunoașterea statutului privind translocția *CBFB::MYH11* poate fi importantă pentru alegerea strategiei de gestionare clinică.

Limitări

Acest dispozitiv este conceput pentru a detecta rearanjamentele cu puncte de ruptură în regiunea la care se atașează clonele roșii și verzi din acest set de sonde, care include regiunile *CBFB* și *MYH11*. Este posibil ca punctele de ruptură din afara acestor regiuni sau variante ale rearanjamentelor conținute în întregime în interiorul regiunii respective să nu fie detectate cu acest dispozitiv.

Acest dispozitiv nu este destinat pentru: utilizarea ca mijloc de diagnosticare de sine stătător, utilizarea ca mijloc de diagnosticare auxiliar, testare prenatală, screening la nivel de populație, testare la locul de acordare a asistenței medicale sau autotestare.

Acest dispozitiv nu a fost validat pentru utilizarea pe tipuri de probe, pe alte tipuri de boli sau în alte scopuri decât cele specificate în destinația de utilizare.

Este destinat ca test complementar altor teste diagnostice de laborator, iar acțiunea terapeutică nu trebuie inițiată exclusiv pe baza rezultatului FISH.

Raportarea și interpretarea rezultatelor FISH trebuie să fie făcute de către personal calificat corespunzător, concordante cu standardele de practică profesională și trebuie să ia în considerare alte rezultate ale testelor relevante, informații clinice și diagnostice.

Acest dispozitiv este destinat numai pentru utilizare profesională de laborator. Nerespectarea protocolului poate afecta performanța și poate duce la rezultate fals pozitive/negative.

Principiul testului

Hibridizarea fluorescență *in situ* (FISH) este o tehnică care permite detecția secvențelor de ADN pe cromozomii în metafază sau nucleii în interfază din probe citogenetice fixate. Această tehnică presupune utilizarea sondelor de ADN care se hibridizează la cromozomi întregi sau la secvențe unice separate și servește ca un important test complementar analizei citogenetice cu bandare G. Această tehnică poate fi aplicată în prezent ca instrument de investigație esențial în cadrul analizei cromozomiale prenatale, hematologice și a tumorilor solide. ADN-ul țintă, după fixare și denaturare, este disponibil pentru aliniere la o sondă de ADN denaturată în mod similar și marcată fluorescent, care are o secvență complementară. După

hibridizare, sonda de ADN nelegată și legată în mod nespecific este îndepărtată, iar ADN-ul este contracolorat pentru vizualizare. După aceea, microscopia de fluorescență permite vizualizarea sondei hibridizate pe materialul țintă.

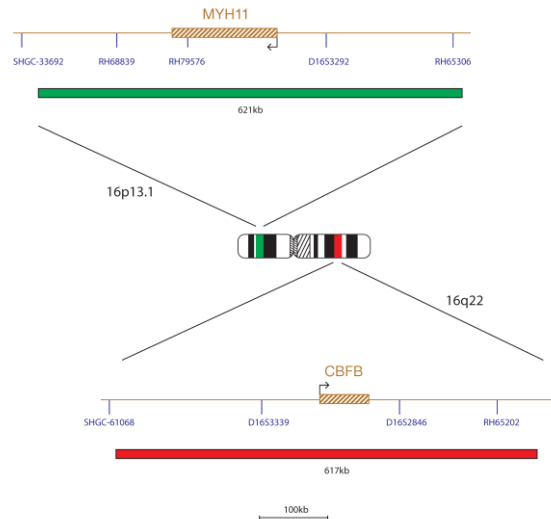
Informații privind sonda

Gena *CBFB* (factorul de legare a nucleului, beta) este localizată la nivelul 16q22, iar gena *MYH11* (lanțul greu al miozinei 11) este localizată la nivelul 16p13.1. Inversia *inv(16)(p13.1q22)* și translocția *t(16;16)(p13.1;q22)* generează gena de fuziune *CBFB::MYH11*. Leucemia mieloidă acută cu fuziune *CBFB::MYH11* este o entitate patologică recunoscută în conformitate cu clasificarea Organizației Mondiale a Sănătății (OMS)³. Acest tip de LAM reprezintă 5-8% din cazurile la pacienții adulți tineri și scade în incidență la adulții mai în vârstă¹. *inv(16)(p13.1q22)* este cea mai frecventă alterare citogenetică detectată la ~95% dintre pacienții cu *CBFB::MYH11*. Prognosticul LAM cu *CBFB::MYH11* este favorabil, cu rate de supraviețuire pe termen lung de ~50% la adulți^{1,2}.

Specificații privind sonda

CBFB, 16q22, roșu
MYH11, 16p13.1, verde

CMP-H077 v005.00



Sonda CBFB, marcată cu roșu, se atașează la o regiune de 617 kb la nivelul 16q22 și include gena *CBFB*. Sonda MYH11, marcată cu verde, se atașează la o regiune de 621 kb la nivelul 16p13.1 și include gena *MYH11*.

Materiale furnizate

Sonda: 50 μl per flacon (5 teste) sau 100 μl per flacon (10 teste)

Sondele sunt furnizate pre-amestecate în soluție de hibridizare (< 65% formamidă; < 20 mg dextran sulfat; < 10% de soluție salină - citrat de sodiu (SSC)) 20x și sunt gata de utilizare.

Contracolorant: 150 μl per flacon (15 teste)

Contracolorantul este DAPI Antifade ES (0,125 μg/ml DAPI (4,6-diamidino-2-fenilindol) în mediu de montare pe bază de glicerol).

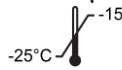
Atenționări și precauții

1. Pentru diagnosticare *in vitro*. Numai pentru utilizare profesională în laborator.
2. Amestecurile de sonde conțin formamidă, care este teratogen; nu inhalați vaporii și nu permiteți contactul cu pielea. Manevrați cu atenție; purtați mănuși și halat de laborator.
3. Manevrați DAPI cu atenție; purtați mănuși și halat de laborator.
4. Nu utilizați dacă flaconul/flacoanele este/sunt deteriorat/e sau conținutul flaconului este compromis în orice fel.
5. Respectați reglementările locale de eliminare pentru locația dvs., împreună cu recomandările din fișa cu date de securitate, pentru a determina modul sigur de eliminare a acestui produs. Acest lucru este valabil și pentru conținutul deteriorat al kitului de testare.
6. Eliminați toți reactivii utilizați și orice alte materiale de unică folosință contaminate în conformitate cu procedurile pentru deșeurile infecțioase sau potențial infecțioase. Este responsabilitatea fiecărui laborator să manipuleze deșeurile solide și lichide în funcție de natura și gradul lor de pericolozitate și să le trateze și să le elimine (sau să dispună tratarea și eliminarea lor) în conformitate cu toate reglementările aplicabile.
7. Operatorii trebuie să fie capabili să distingă culorile roșu, albastru și verde.
8. Nerespectarea protocolului specificat, inclusiv a indicațiilor privind reactivii, poate afecta performanța și poate duce la rezultate fals pozitive/negative.
9. Sonda nu trebuie diluată sau amestecată cu alte sonde.
10. Neutilizarea a 10 μl de sondă la etapa de pre-denaturare a protocolului poate afecta performanța și poate duce la rezultate fals pozitive/negative.
11. Toate produsele trebuie validate înainte de utilizare.
12. Controlurile interne trebuie efectuate prin utilizarea unor populații de celule neafectate în probele de testare.

Definiții pentru temperatură

- -20 °C / Congelat / În congelator: între -25 °C și -15 °C
- 37 °C: +37 °C ± 1 °C
- 72 °C: +72 °C ± 1 °C
- 75 °C: +75 °C ± 1 °C
- Temperatura camerei (TC): între +15 °C și +25 °C

Păstrare și manevrare

 Kitul trebuie păstrat la temperaturi cuprinse între -25 °C și -15 °C în congelator până la data de expirare indicată pe eticheta kitului. Flacoanele cu sondă și contracolorant trebuie păstrate la întuneric.



Sonda FISH, contracolorantul DAPI Antifade ES și soluția de hibridizare rămân stabile de-a lungul ciclurilor de congelare-decongelare prin care trec în timpul utilizării normale (unde un ciclu reprezintă scoaterea flaconului din congelator și repunerea acestuia în congelator) - 5 cicluri pentru flaconul de 50 μl (5 teste) de sondă FISH, 10 cicluri pentru flaconul de 100 μl (10 teste) de sondă FISH și 15 cicluri pentru flaconul de 150 μl (15 teste) de contracolorant. Expunerea la lumină trebuie să fie redusă la minimum și evitată ori de câte ori este posibil. Păstrați componentele în recipientul rezistent la lumină furnizat. Componentele utilizate și păstrate în alte condiții decât cele menționate pe etichetă pot să nu funcționeze conform așteptărilor și pot afecta negativ rezultatele analizei. Trebuie depuse toate eforturile pentru a limita expunerea la lumină și modificările de temperatură.

Echipe și materiale necesare, dar neincluse în setul de livrare

Trebuie utilizate echipamente calibrate:

1. Placă fierbinte (cu placă solidă și control precis al temperaturii până la 80 °C)
2. Micropipete cu volum variabil, calibrate și vârfuri, în intervalul 1 μl - 200 μl
3. Baie de apă cu control precis al temperaturii la 37 °C și 72 °C
4. Eprubete de microcentrifugă (0,5 ml)
5. Microscop de fluorescență (vă rugăm să consultați secțiunea Recomandare privind microscopul de fluorescență)
6. Microscop în contrast de fază
7. Vase Coplin din plastic, ceramică sau sticlă rezistentă la căldură, curate
8. Pensă
9. pH-metru calibrat (sau benzi indicatoare de pH capabile să măsoare valori ale pH-ului de 6,5 - 8,0)
10. Recipient umidificat
11. Ulei de imersie pentru lentile de microscop de grad de fluorescență
12. Centrifugă pentru banc de lucru
13. Lame de microscop
14. Lamele de 24x24 mm
15. Cronometru
16. Incubator la 37 °C
17. Adeziv din soluție de cauciuc
18. Mixer vortex
19. Cilindri gradați
20. Agitator magnetic
21. Termometru calibrat

Echipe opționale, care nu sunt furnizate

1. Cameră de uscare de citogenetică

Reactivi necesari, dar care nu sunt furnizați

1. Soluție salină - citrat de sodiu (SSC - saline-sodium citrate) 20x
2. Etanol 100%
3. Tween-20
4. Hidroxid de sodiu (NaOH) 1M
5. Acid clorhidric (HCl) 1M
6. Apă purificată

Recomandare privind microscopul de fluorescență

Utilizați o lampă cu mercur de 100 wați sau echivalent și obiective plane apocromate cu imersie în ulei de 60/63x sau 100x pentru vizualizare optimă. Fluoroforii utilizați în acest set de sonde vor fi excitați și vor emite la următoarele lungimi de undă:

| Fluorofor | Excitația _{max} [nm] | Emisia _{max} [nm] |
|------------|-------------------------------|----------------------------|
| DAPI | 364 | 454 |
| Aqua | 418 | 467 |
| Verde | 495 | 521 |
| Roșu | 596 | 615 |
| Auriu | 539 | 561 |
| Portocaliu | 551 | 572 |

Asigurați-vă de atașarea la microscop a unor filtre de excitație și emisie adecvate care acoperă lungimile de undă enumerate mai sus.

Utilizați un filtru cu bandă de trecere triplă DAPI/spectru verde/spectru roșu sau un filtru cu bandă de trecere dublă spectru verde/spectru roșu pentru vizualizarea simultană optimă a fluoroforilor de culoare verde și roșie.

Verificați microscopul de fluorescență înainte de utilizare, pentru a vă asigura că acesta funcționează corect. Utilizați ulei de imersie potrivit pentru microscopia de fluorescență și este formulat pentru autofluorescență redusă. Evitați amestecul

agentului anti-diminuare a colorării DAPI cu uleiul de imersie pentru microscop, deoarece acest lucru ar estompa semnalele. Urmați recomandările producătorului cu privire la durata de viață a lămpii și vârsta filtrelor.

Prepararea probelor

Acest kit este destinat pentru utilizare pe suspensii de celule de origine hematologică, fixate în soluție Carnoy (metanol/acid acetic 3:1), de la pacienți cu diagnostic suspectat sau confirmat de leucemie acută mieloidă (LAM), care sunt preparate în conformitate cu ghidurile laboratorului sau instituției. Preparați probele uscate la aer pe lame de microscop în conformitate cu procedurile standard de citogenetică. *Manualul de laborator de analize citogenetice (Cytogenetics Laboratory Manual)* al AGT (Association of Genetic Technologists) conține recomandări pentru colectarea speciemenelor, cultura, recoltarea și crearea lamelor³.

Prepararea soluțiilor

Soluțiile de etanol

Diluati etanol 100% cu apă purificată prin utilizarea următoarelor proporții și amestecați temeinic:

- Etanol 70% - 7 părți etanol 100% la 3 părți apă purificată
- Etanol 85% - 8,5 părți etanol 100% la 1,5 părți apă purificată

Păstrați soluțiile timp de maximum 6 luni la temperatura camerei, într-un recipient ermetic.

Soluție SSC 2x

Diluati 1 parte soluție SSC 20x cu 9 părți apă purificată și amestecați temeinic. Verificați pH-ul și ajustați la pH de 7,0 prin utilizarea de NaOH sau HCl, după cum este necesar. Păstrați soluția timp de maximum 4 săptămâni la temperatura camerei într-un recipient ermetic.

Soluție SSC 0,4x

Diluati 1 parte soluție SSC 20x cu 49 părți apă purificată și amestecați temeinic. Verificați pH-ul și ajustați la pH de 7,0 prin utilizarea de NaOH sau HCl, după cum este necesar. Păstrați soluția timp de maximum 4 săptămâni la temperatura camerei într-un recipient ermetic.

Soluție SSC 2x, Tween-20 0,05%

Diluati 1 parte soluție SSC 20x cu 9 părți apă purificată. Adăugați 5 μl de Tween-20 per 10 ml și amestecați temeinic. Verificați pH-ul și ajustați la pH de 7,0 prin utilizarea de NaOH sau HCl, după cum este necesar. Păstrați soluția timp de maximum 4 săptămâni la temperatura camerei într-un recipient ermetic.

Protocolul FISH

(Notă: Limitați expunerea în orice moment a sondei și a contracolorantului la lumina din laborator.)

Prepararea lamei

1. Depuneți punctiform proba de celule pe o lamă de microscop din sticlă. Lăsați să se usuce. (**Opțional, dacă utilizați o cameră de uscare de citogenetică:** Camera trebuie să funcționeze la aproximativ 25 °C și umiditate de 50% pentru depunerea punctiformă optimă a probei de celule. Dacă nu este disponibilă o cameră de uscare de citogenetică, utilizați ca alternativă o hotă.)
2. Imersați lama în SSC 2x timp de 2 minute la temperatura camerei (TC), fără agitare.
3. Deshidratați în serii de etanol (70%, 85% și 100%), fiecare timp de 2 minute la TC.
4. Lăsați să se usuce.

Pre-denaturarea

5. Scoateți sonda din congelator și lăsați-o să se încălzească până la TC. Centrifugați scurt eprubetele înainte de utilizare.
6. Asigurați-vă de faptul că soluția de sondă este amestecată uniform, cu o pipetă.
7. Îndepărtați 10 μl de sondă per test și transferați într-o eprubetă de microcentrifugă. Puneți rapid la loc în congelator sonda rămasă.
8. Plasați sonda și lama cu probă pentru preîncălzire pe o placă fierbinte de 37 °C (+/- 1 °C) timp de 5 minute.
9. Depuneți punctiform 10 μl de amestec de sondă pe proba de celule și aplicați cu atenție o lamelă. Sigilați cu adeziv din soluție de cauciuc și lăsați adezivul să se usuce complet.

Denaturarea

10. Denaturați simultan proba și sonda prin încălzirea lamei pe o placă fierbinte la 75 °C (+/- 1 °C) timp de 2 minute.

Hibridizarea

11. Plasați lama într-un recipient umed, impermeabil pentru lumină, la 37 °C (+/- 1 °C) și lăsați-o să stea peste noapte.

Spălările post-hibridizare

12. Scoateți DAPI din congelator și lăsați să se încălzească la TC.
13. Îndepărtați cu atenție lamela și toate urmele de adeziv.
14. Imersați lama în SSC 0,4x (pH 7,0) la 72 °C (+/- 1 °C) timp de 2 minute fără agitare.
15. Lăsați lama să se scurgă și imersați-o în SSC 2x, Tween-20 0,05% la TC (pH 7,0) timp de 30 secunde fără agitare.
16. Lăsați lama să se scurgă și aplicați 10 μl de agent anti-diminuare a colorării DAPI pe fiecare probă.
17. Acoperiți cu o lamelă, îndepărtați orice eventuale bule și lăsați culoarea să se dezvolte la întuneric timp de 10 minute.

18. Vizualizați cu un microscop de fluorescență (consultați **secțiunea Recomandare privind microscopul de fluorescență**).

Recomandări procedurale

1. Coacerea sau îmbătrânirea lamelor poate reduce semnalul de fluorescență.
2. Condițiile de hibridizare pot fi influențate în mod negativ de utilizarea unor reactivi diferiți de cei furnizați sau recomandați de Cytocell Ltd.
3. Utilizați un termometru calibrat pentru măsurarea temperaturilor soluțiilor, băilor de apă și incubatoarelor, deoarece aceste temperaturi sunt critice pentru performanța optimă a produsului.
4. Concentrațiile, pH-ul și temperaturile de spălare sunt importante, deoarece o strictețe redusă poate avea ca rezultat legarea nespecifică a sondei, iar o strictețe prea mare poate avea ca rezultat lipsa de semnal.
5. Denaturarea incompletă poate avea ca rezultat lipsa de semnal, iar denaturarea excesivă poate avea ca rezultat, de asemenea, atașarea nespecifică.
6. În urma hibridizării excesive se pot forma semnale suplimentare sau neașteptate.
7. Utilizatorii trebuie să optimizeze protocolul pentru propriile lor probe înainte de utilizarea testului în scopuri diagnostice.
8. Condițiile suboptimale pot avea ca rezultat atașarea nespecifică, care poate fi interpretată eronat ca semnal al sondei.

Interpretarea rezultatelor

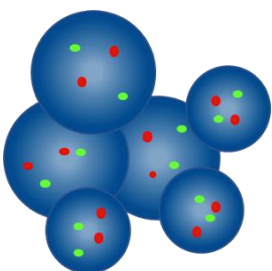
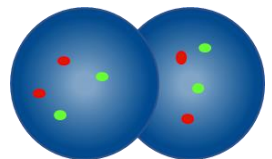
Evaluarea calității lamei

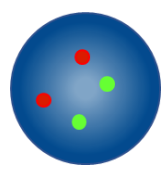
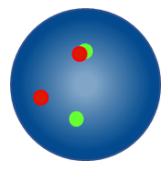
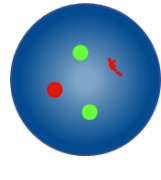
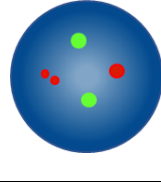
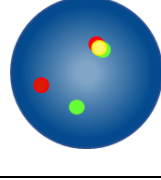
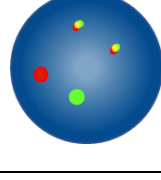
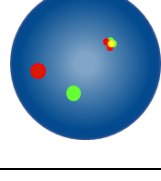
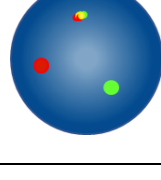
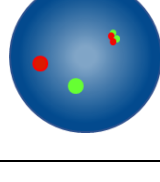
Lama nu trebuie analizată dacă:

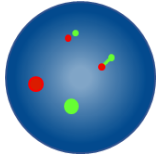
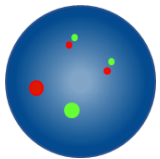
- Semnalele sunt prea slabe pentru a fi analizate în filtre unice - pentru a continua analiza, semnalele trebuie să apară luminoase, distincte și ușor evaluabile
- Există un număr mare de celule agregate/suprapuse care obstrucționează analiza
- > 50% dintre celule nu sunt hibridizate
- Există un exces de particule fluorescente între celule și/sau o ceață fluorescență care interferează cu semnalele - în lamele optime, fundalul trebuie să apară întunecat sau negru și curat
- Marginile nucleilor celulelor nu pot fi distinse și nu sunt intacte

Linii directe privind analiza

- Fiecare probă trebuie analizată și interpretată de doi analiști. Orice discrepanță trebuie rezolvată prin evaluarea de către un al treilea analist
- Fiecare analist trebuie să fie calificat adecvat în conformitate cu standardele recunoscute la nivel național
- Fiecare analist trebuie să atribuie un scor în mod independent unui număr de 100 de nucleu pentru fiecare probă. Primul analist trebuie să înceapă analiza din partea stângă a lamei, iar cel de-al doilea analist, din partea dreaptă
- Fiecare analist trebuie să își documenteze rezultatele în fișe separate
- Analizați numai nucleii intacti, nu și pe cei suprapuși sau aglomerați sau nucleii acoperiți de resturi citoplasmice sau cu un grad ridicat de autofluorescență
- Evitați zonele în care există un exces de resturi citoplasmice sau hibridizare nespecifică.
- Intensitatea semnalului poate varia, chiar și în cazul unui singur nucleu. În astfel de cazuri, utilizați filtre unice și/sau ajustați planul focal
- În condiții suboptimale, semnalele pot apărea difuze. Dacă două semnale de aceeași culoare se ating unul pe celălalt, sau dacă distanța dintre ele nu este mai mare decât două lățimi de semnal, sau atunci când există un fir slab care conectează cele două semnale, considerați ca un singur semnal
- Dacă aveți orice dubii cu privire la caracterul analizabil al unei celule, nu o analizați

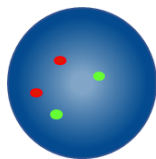
| Linii directe privind analiza | |
|---|--|
|  | Nu se analizează — nucleele se află prea aproape unele de celelalte pentru a le putea determina hotarele |
|  | Nucleele suprapuse nu se analizează — nu sunt vizibile toate zonele celor două nucleu |

| | |
|--|--|
|  | Tiparul de semnale normal așteptat (2R2V) |
|  | Tiparul de semnale normal (2R2V) - un semnal roșu și un semnal verde sunt co-localizate |
|  | Tiparul de semnale normal (2R2V) - unul dintre cele două semnale roșii este difuz |
|  | Tiparul de semnale normal (2R2V) - breșa în cadrul unui semnal roșu este mai mică decât lățimea a două sonde |
|  | Tiparul de semnale normal (2R2V) - un semnal roșu și un semnal verde sunt co-localizate |
|  | Tiparul de semnale anormal așteptat (1R1V2F) - semnalele de fuziune roșu și verde sunt proporțional mai mici |
|  | Tiparul de semnale anormal așteptat (1R1V2F) - semnale de fuziune co-localizate |
|  | Tiparul de semnale anormal așteptat (1R1V2F) - semnale de fuziune co-localizate |
|  | Tiparul de semnale anormal așteptat (1R1V2F) - două semnale de fuziune alături |

| | |
|---|---|
|  | Considerați ca un semnal roșu, un semnal verde și două semnale de fuziune — unul dintre semnalele de fuziune este difuz |
|  | Considerați ca un semnal roșu, un semnal verde și două semnale de fuziune - breșa dintre semnalul roșu și cel verde în cadrul fuziunilor este mai mică decât lățimea a două sonde iar semnalele de fuziune roșu și verde sunt proporțional mai mici |

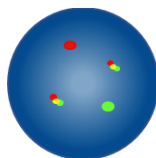
Rezultate așteptate

Tiparul de semnale normal așteptat



Într-o celulă normală se așteaptă detectarea a două semnale roșii și două semnale verzi (2R2V)

Tiparul de semnale anormale așteptat



Într-o celulă cu inv(16)(p13.1q22) sau t(16;16)(p13.1;q22), tiparul așteptat de semnale este: un semnal roșu, un semnal verde și două fuziuni (1R1V2F).

În specimene cu aneuploidie/neechilibrate sunt posibile și alte modele de semnale.

Interferențe/Substanțe interferente cunoscute relevante

Nu se cunosc interferențe/substanțe interferente relevante.

Reactivitate încrucișată cunoscută

Nu este cunoscută nicio reactivitate încrucișată.

Raportarea incidentelor grave

Pentru un pacient/utilizator/terț din Uniunea Europeană și din țările cu un regim de reglementare identic (Regulamentul (UE) 2017/746 privind dispozitivele medicale de diagnostic *in vitro*); dacă, în timpul utilizării acestui dispozitiv sau ca urmare a utilizării acestuia, a avut loc un incident grav, vă rugăm să îl raportați producătorului și autorității naționale competente din țara dvs.

Pentru incidente grave în alte țări, vă rugăm să le raportați producătorului și, dacă este cazul, autorității naționale competente din țara dvs.

Punct de contact de siguranță al producătorului: vigilance@ogt.com

Pentru autoritățile naționale competente din UE, o listă de puncte de contact de siguranță se găsește la:

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

Caracteristici de performanță specifice

Specificitatea analitică

Specificitatea analitică este definită ca procentul de semnale care se hibridizează la locusul corect și nu în altă locație. Au fost analizate două locusuri cromozomiale în fiecare dintre douăzeci de celule în metafază din cinci probe, rezultând 200 puncte de date. Locația fiecărei sonde hibridizate a fost mapată și a fost înregistrat numărul de semnale FISH de cromozomi în metafază care s-au hibridizat în locusul corect.

Specificitatea analitică a fiecărui produs a fost calculată ca numărul de semnale FISH de cromozomi în metafază hibridizați la locusul corect împărțit la numărul total de semnale FISH de cromozomi în metafază hibridizați; acest rezultat a fost înmulțit cu 100, a fost exprimat ca procent și i-a fost atribuit un interval de încredere de 95%.

Tabelul 1. Specificitatea analitică pentru CBFβ (CBFB)/MYH11 Translocation, Dual Fusion Probe

| Ținta | Numărul de cromozomi în metafază hibridizați | Numărul de locusuri cu hibridizare corectă | Specificitatea analitică | Interval de încredere de 95% |
|---------|--|--|--------------------------|------------------------------|
| 16q22 | 200 | 200 | 100% | 98,12% - 100% |
| 16p13.1 | 200 | 200 | 100% | 98,12% - 100% |

Sensibilitatea analitică

Sensibilitatea analitică este procentul de celule de interfază cărora li se poate atribui un scor cu tiparul de semnale normal așteptat. A fost analizat un minim de 200 celule în interfază pentru fiecare din cele 25 de probe de măduvă osoasă, rezultând un minim de 5.000 de nuclee cărora li s-a atribuit un scor pentru fiecare tip de probă. Datele privind sensibilitatea au fost analizate pe baza procentului de celule care prezintă un model așteptat de semnale normal și au fost exprimate ca procent cu un interval de încredere de 95%.

Tabelul 2. Sensibilitatea analitică pentru CBFβ (CBFB)/MYH11 Translocation, Dual Fusion Probe

| Tip de probă | Criterii de sensibilitate | Rezultat de sensibilitate |
|---------------|---------------------------|---------------------------|
| Măduvă osoasă | >95% | 98,94% (98,59%-99,29%) |

Caracterizarea valorilor limită de normalitate

Valoarea normală de referință este definită ca procentul de celule care prezintă un model de semnale fals pozitive la care o persoană ar fi considerată normală și care nu este concordant cu un diagnostic clinic. A fost analizat un minim de 200 celule în interfază pentru fiecare din cele 1.300 de probe de măduvă osoasă rezultând un minim de 260000 de nuclee cărora li s-a atribuit un scor pentru fiecare tip de probă.

Valoarea normală de referință a fost determinată prin utilizarea funcției β-inversă (BETAINV) din MS Excel. Aceasta a fost calculată ca procentul de celule în interfază care prezintă un model de semnale fals pozitive prin utilizarea limitei superioare a unui interval de încredere de 95% unilateral al distribuției binomiale într-o probă de la un pacient normal.

Tabelul 3. Caracterizarea valorilor limită de normalitate pentru CBFβ (CBFB)/MYH11 Translocation, Dual Fusion Probe

| Tip de probă | Rezultat de referință |
|---------------|-----------------------|
| Măduvă osoasă | 2,3% |

Laboratoarele trebuie să verifice valorile de referință în baza propriilor date^{4,5}.

Reproductibilitatea

S-au efectuat studii de reproductibilitate pentru a stabili:

- Reproductibilitatea la 3 centre în cadrul aceleiași zile (între probe)
- Reproductibilitatea la 3 centre între zile diferite (între zile)
- Reproductibilitatea la 3 centre între centre diferite (între centre)
- Reproductibilitatea la un singur centru între loturi diferite (între loturi)

Reproductibilitatea a fost stabilită în trei laboratoare independente, în care au fost analizate șase probe mascate (două probe fără rearanjament, două probe cu pozitivitate slabă de 1-3 ori mai mare decât valoarea limită de normalitate și două probe cu pozitivitate înaltă, cu prezența rearanjamentului în peste 45% dintre celule). Analiza a fost efectuată folosind două replicare ale fiecărei probe în decursul a cinci zile neconsecutive.

În toate cele trei laboratoare, au fost comparate rezultatele obținute cu același set de sonde în diferite momente ale aceleiași zile, în zile diferite și în centre diferite, iar unul dintre laboratoare a determinat, de asemenea, reproductibilitatea rezultatelor obținute cu trei seturi de sonde diferite.

Rezultatele au fost prezentate ca fiind concordanța globală cu clasa negativă prezisă (pentru probele negative) și cu clasa pozitivă prezisă (pentru probele pozitive).

Tabelul 4a. Reproductibilitatea și precizia pentru CBFβ (CBFB)/MYH11 Translocation, Dual Fusion Probe

| Variabilă | Tip de probă | Concordanța |
|--|-----------------------------|-------------|
| Reproductibilitatea în cadrul aceleiași zile (între probe), între zile diferite (între zile) și între centre diferite (între centre) | Măduvă osoasă Negativ | 100% |
| | Măduvă osoasă Slab pozitiv | 35% |
| | Măduvă osoasă Înalt pozitiv | 100% |
| Reproductibilitatea între loturi | Măduvă osoasă Negativ | 100% |
| | Măduvă osoasă Slab pozitiv | 33% |
| | Măduvă osoasă Înalt pozitiv | 100% |

A fost efectuat un studiu suplimentar de reproductibilitate pentru a suplimenta rezultatele slab pozitive, utilizând două probe cu niveluri diferite de pozitivitate scăzută (2x și 4x față de valoarea limită de normalitate) și două probe negative pentru a stabili:

- Reproducibilitatea la un singur centru în cadrul aceleiași zile (între probe)
- Reproducibilitatea la un singur centru între zile diferite (între zile)
- Reproducibilitatea la un singur centru între operatori diferiți (între operatori)

Reproducibilitatea a fost stabilită folosind un lot de sondă, evaluată pe două replici ale fiecărui probe, testată pe parcursul a cinci zile neconsecutive de către doi operatori diferiți.

Rezultatele au fost prezentate ca fiind concordanța globală cu clasa pozitivă prezisă (pentru probele pozitive).

Tabelul 4b. Date de sprijin suplimentare pentru reproductibilitate și precizie pentru CBFβ (CBFB)/MYH11 Translocation, Dual Fusion Probe

| Variabilă | Tip de probă | Concordanța |
|---|--|-------------|
| Reproducibilitatea în cadrul aceleiași zile (între probe), între zile diferite (între zile) și între operatori diferiți (între operatori) | Măduvă osoasă Slab pozitiv (2x față de valoarea limită de normalitate) | 100% |
| | Măduvă osoasă Slab pozitiv (4x față de valoarea limită de normalitate) | 100% |

Performanța clinică

Pentru a fi asigurat faptul că CBFβ (CBFB)/MYH11 Translocation, Dual Fusion Probe detectează rearanjamentele dorite, performanța clinică a fost stabilită în cadrul a patru (4) studii pe probe reprezentative ale populației vizate pentru produs: material rezidual fixat în metanol/ acetic 3:1. Studiile au avut o mărime combinată a eșantionului de trei sute nouăzeci și trei (393) de specimene, cu un total de douăzeci și opt (28) de specimene pozitive și trei sute șizeci și cinci (365) de specimene negative. Rezultatele au fost comparate cu statutul cunoscut al probei. S-a constatat că concordanța/neconcordanța rezultatelor a îndeplinit criteriile de acceptare pentru acest studiu. Rezultatele acestor teste au fost analizate pentru a furniza valorile privind sensibilitatea clinică, specificitatea clinică și rata de rezultate fals pozitive (FPR, false positive rate) pentru semnalele pozitive, prin utilizarea unei abordări unidimensionale.

Tabelul 5. Performanța clinică pentru CBFβ (CBFB)/MYH11 Translocation, Dual Fusion Probe

| Variabilă | Rezultat |
|---|----------|
| Sensibilitate clinică (rata de rezultate real pozitive, TPR)* | 98,76% |
| Specificitate clinică (rata de rezultate real negative, TNR)* | 99,52% |
| Rata de rezultate fals pozitive (FPR) = 1 - specificitatea* | 0,48% |

Rezumatul de siguranță și performanță (SSP)

SSP trebuie să fie pus la dispoziția publicului prin Baza de date europeană a dispozitivelor medicale (Eudamed), unde este pus în legătură cu UDI-DI de bază. URL Eudamed: <https://ec.europa.eu/tools/eudamed>
UDI-DI de bază: 50558449LPH022J9

Dacă Eudamed nu este complet funcțională, SSP trebuie să fie pus la dispoziția publicului, la cerere, prin solicitare la adresa SSP@ogt.com.

Informații suplimentare

Pentru informații suplimentare referitoare la produs, vă rugăm să contactați departamentul de asistență tehnică CytoCell.

Tel: +44 (0)1223 294048

E: techsupport@cytozell.com

Internet: www.ogt.com

Referințe

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

Glosarul simbolurilor

| EN ISO 15223-1:2021 - „Dispozitive medicale - Simboluri care trebuie utilizate împreună cu informațiile care trebuie furnizate de către producător - Partea 1: Cerințe generale” (© International Organization for Standardization) | | |
|--|--|---------------------------|
| Simbol | Titlu | Număr/numere de referință |
| | ro: Producător | 5.1.1 |
| | ro: Reprezentant autorizat pentru Comunitatea Europeană/Uniunea Europeană | 5.1.2 |
| | ro: Data de expirare | 5.1.4 |
| | ro: Seria de fabricație | 5.1.5 |
| | ro: Număr de catalog | 5.1.6 |
| | ro: A se feri de lumina solară | 5.3.2 |
| | ro: Limită de temperatură | 5.3.7 |
| | ro: Consultați instrucțiunile de utilizare | 5.4.3 |
| | ro: Consultați instrucțiunile de utilizare electronice ogt.com/IFU | 5.4.3 |
| | ro: Precauție | 5.4.4 |
| | ro: Dispozitiv medical pentru diagnostic <i>in vitro</i> | 5.5.1 |
| | ro: Conține o cantitate suficientă pentru <n> teste | 5.5.5 |
| | ro: Identificator unic al dispozitivului | 5.7.10 |
| Simboluri EDMA pentru reactivi și componente IVD, revizie octombrie 2009 | | |
| Simbol | Titlu | Număr/numere de referință |
| | ro: Conținut (sau conținuturi) | Nu este cazul |

Brevete și mărci comerciale

CytoCell este marcă comercială înregistrată a CytoCell Ltd.



CytoCell Limited

Oxford Gene Technology
418 Cambridge Science Park
Milton Road
CAMBRIDGE
CB4 0PZ
MAREA BRITANIE

Tel: +44 (0)1223 294048

Fax: +44 (0)1223 294986

E: probes@cytozell.com

Internet: www.ogt.com



Systemx Europe SE

Bombarch 1
22848 Norderstedt
GERMANIA

Tel: +49 40 527260

Internet: www.systemx-europe.com

Istoricul versiunilor IFU

V001 2023-10-09: Noi IFU pentru Regulamentul (UE) 2017/746.