A Sysmex Group Company

CytoCell

Návod k použití (IFU)

REF: CE-LPH 011-S / CE-LPH 011

ATM Deletion Probe

CE IVD
2797

POUZE K PROFESIONÁLNÍMU POUŽITÍ

ogt.com/IFU

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

Zamýšlený účel
Sonda CytoCell® ATM Deletion Probe je kvalitativní, neautomatizovaný, fluorescenční *in situ* hybridizační test (FISH) používaný k detekci chromozomálních delecí v oblasti 11q22.3 na chromozomu 11 v hematologicky získaných buněčných suspenzích fixovaných v Carnoyově roztoku (3 : 1 metanol / kyselina octová) od pacientů s potvrzenou nebo předpokládanou 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 *ATM* byla důležitá pro klinickou léčbu.

Omezení
Tento prostředek je navržen tak, aby detekoval genomové ztráty, které jsou větší než oblast pokrytá červenou kopií v této sadě sond, což zahrnuje oblast *ATM*. Genomové ztráty mimo tuto oblast nebo částečné ztráty této oblasti nemusí být tímto prostředkem detekovány.
Tento prostředek není určen k použití v rámci samostatné diagnostiky, doprovodné diagnostiky, prenatálnímu 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 použití.
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.

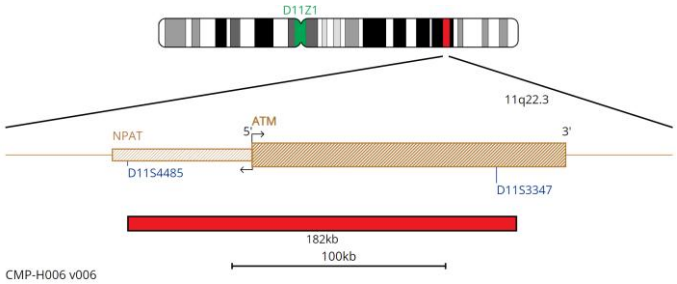
Principy testu
Fluorescenční *in situ* hybridizace (FISH) je technika umožňující detekovat sekvence DNA na metafázových chromozomech nebo v interfázních jádrech z fixovaných cytogenetických vzorků. Tato technika využívá sondy DNA, které hybridizují na celé chromozomy nebo na jednotlivé jedinečné sekvence, 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 proteinkináza *ATM* (*serin/treonin kináza ATM*) na 11q22.3 je často deletován v případech chronické lymfocytické leukémie B-buněk (CLL). *ATM* je důležitým kontrolním genem odpovědným za řízení poškození buněk. Jeho funkcí je vyhodnotit stupeň poškození DNA buňky a pokusit se o nápravu pomocí fosforylace klíčových substrátů zapojených do procesu odpovědi na poškození DNA[1].

B-CLL je nejběžnějším typem leukémie u dospělých; její průběh může být různý, může postupovat velmi pomalu i rychle a progresívně. Díky nízké mitotické aktivitě leukemických buněk *in vitro* jsou klonální chromozomální abnormality detekovány pomocí konvenční cytogenetiky, využívající B-buněčné mitogeny, u 40–50 %[2] případů, zatímco analýza FISH identifikuje chromozomální aberace přibližně u 80 %[2] případů B-CLL. Screening delecí *ATM* a/nebo *TP53* je nezbytný k tomu, aby umožnil informovanou volbu léčby pacientů s B-CLL, protože delece *TP53* a *ATM* naznačují horší prognózu tohoto onemocnění[4]; proto se využití testu FISH ukázalo jako účinný nástroj jak v diagnostice, tak v léčbě pacientů s B-CLL[2,3,4].

Analýza interakce *ATM/TP53* u pacientů s B-CLL prokázala, že *TP53* a *ATM* hrají významnou roli při proliferaci lymfoidních nádorů[1]. Bylo prokázáno, že *ATM* zlepšuje fosforylaci *TP53*, pokud je poškození tak velké, že buňka vyžaduje destrukci pomocí apoptózy (což je zprostředkováno pomocí *TP53*). Delece *ATM* odstraňuje aktivitu tohoto kontrolního bodu a tím i aktivaci *TP53*. Tudíž není, navzdory přítomnosti *TP53*, proveden pokus o opravu nebo apoptózu poškozených buněk. Při absenci *ATM* mohou poškozené buňky dále proliferovat[5].

Parametry sondy
ATM, 11q22.3, červená
D11Z1, 11p11.11-q11, zelená



Sonda ATM má délku 182 kb, je označena červeně a pokrývá telomerický konec genu *NPAT* a centromerický konec genu *ATM* těsně za markerem D11S3347. Směs sond také obsahuje kontrolní sondu pro centromeru 11 (D11Z1), označenou zeleně.

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 % formamidu; <20 mg dextran sulfátu; <10 % 20× 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-fenylindol) v montážním médiu na bázi glycerolu).

Varování a bezpečnostní pokyny
1. Pro diagnostické 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. Zacházejte s DAPI opatrně; noste rukavice a laboratorní plášť.
4. Nepoužívejte, pokud jsou lahvičky poškozeny nebo je obsah lahvičky jakkoli znehodnocen.
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 reagencie 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.
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 predenaturace v rámci protokolu použito 10 µl sondy, může to ovlivnit funkci a vést k falešně pozitivním/negativním výsledkům.
11. Všechny produkty by měly být před použitím validovány.
12. 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
-15°C -25°C
Sadu je třeba uchovávat v mrazničce při teplotách −25 °C až −15 °C až do data exspirace, 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 ovládáním 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 ovládáním teploty od 37 ºC do 72 ºC
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 sklíčka
14. Krycí sklíčka 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 reagencie, které nejsou součástí dodávky
1. 20× fyziologický roztok citrátu 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 60/63× nebo 100× 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 auto-fluorescenci. 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 sklíčka 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 sklíček[6].

Příprava roztoků
Etanolové 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 2×SSC
Zřeďte 1 díl roztoku 20×SSC 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 0,4×SSC
Zřeďte 1 díl roztoku 20×SSC 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 2×SSC, 0,05 % roztok Tween-20
Zřeďte 1 díl roztoku 20×SSC 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 sklíčka
1. Naneste buněčný vzorek na mikroskopové sklíčko. 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. Sklíčko ponořte na 2 minuty do roztoku 2×SSC při pokojové teplotě. Neprotřepávejte.
3. Dehydratujte pomocí etanolové série (70 %, 85 % a 100 %), vždy po dobu 2 minut při pokojové teplotě.
4. Nechte ho uschnout.

Predenaturace
5. Vyjměte sondu z mrazničky a nechejte ji zahřát na pokojovou teplotu. Laboratorní lahvičky před použitím krátce odstřeďte.
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 sklíčko se vzorkem umístěte na varnou desku a předehřívejte po dobu 5 minut při teplotě 37 °C (+/- 1 °C).
9. Kápněte 10 µl směsi sondy na buněčný vzorek a opatrně jej překryjte krycím sklíčkem. Neprodyšně uzavřete pomocí lepidla na bázi kaučukového roztoku a nechejte lepidlo úplně uschnout.

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

Hybridizace
11. Sklíčko uložte na noc do vlhké neprůsvitné nádobky při teplotě 37 °C (+/- 1 °C).

Post-hybridizační vymývání
12. Vyjměte DAPI z mrazničky a nechejte ho zahřát na pokojovou teplotu.
13. Opatrně sejměte krycí sklíčko a odstraňte všechny zbytky lepidla.
14. Sklíčko ponořte na 2 minuty do roztoku 0,4×SSC (pH 7,0) při teplotě 72 °C (+/- 1 °C). Neprotřepávejte.
15. Sklíčko osušte a na 30 sekund ponořte do roztoku 2×SSC, 0,05 % Tween-20 při pokojové teplotě (pH 7,0). Neprotřepávejte.
16. Sklíčko osušte a na každý vzorek naneste 10 µl DAPI antifade.
17. Přikryjte krycím sklíčkem, odstraňte veškeré bubliny, uložte do temna a po dobu 10 minut nechejte vyvíjet barvu.
18. Zkontrolujte pomocí fluorescenčního mikroskopu (viz **Doporučení ohledně fluorescenčního mikroskopu**).

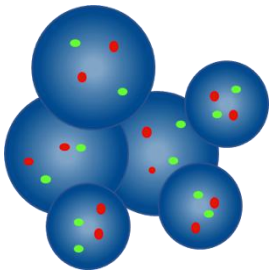
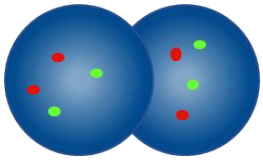
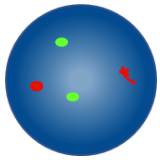
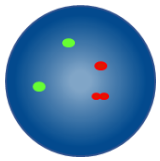
Doporučení pro zpracování
1. Vypalování nebo stárnutí sklíček může redukovat fluorescenční signál.
2. Podmínky hybridizace mohou být nepříznivě ovlivněny použitím reagencií, které nedodává nebo nedoporučuje společnost Cytocell Ltd.
3. K měření teplot roztoků, vodních lázní a inkubátorů používejte kalibrovaný 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.

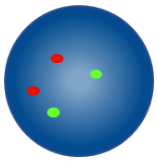
Pokyny pro analýzu

- 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.
- 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, 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 červené signály a dva zelené signály – jeden ze dvou červených signálů je difúzní
	Počítejte jako dva červené signály a dva zelené signály – mezera v jednom červeném signálu je menší než dvě šířky signálu

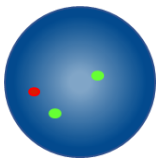
Předpokládané výsledky

Předpokládaný vzorec normálního signálu



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

Předpokládaný vzorec abnormálního signálu



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

U aneuploidních/nevyvážených vzorků jsou možné jiné vzory signálu.

Známé relevantní interference / interferující látky

Nejsou známy žádné relevantní interference / interferující látky.

Známá zkřížená reaktivita

Zelená sonda D11Z1 může vykazovat signály zkřížené hybridizace na 1c, Xc a 17c.

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, nahlaste ji výrobci a svému příslušnému národnímu orgánu.
Pokud došlo k závažným událostem v jiných zemích, nahlaste 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 specificita

Analytická specificita 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 specificita 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 specificita sondy ATM Deletion Probe

Cíl	Počet hybridizovaných metafázových chromozomů	Počet správně hybridizovaných lokusů	Analytická specificita	Interval spolehlivosti 95 %
11q22.3	200	200	100 %	98,12–100 %
11p11.11-11q11	200	200	100 %	98,12–100 %

Analytická citlivost

Analytická citlivost je procento započitatelných interfázních buněk s předpokládaným vzorcem normálního signálu. U každé z 25 fixovaných buněčných suspenzí z kostní dřeně a 25 fixovaných buněčných suspenzí z periferní krve, bylo analyzováno minimálně 100 interfázních buněk, což pro každý typ vzorku znamenalo minimálně 2 500 hodnocených jader. 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 ATM Deletion Probe

Typ vzorku	Kritéria citlivosti	Výsledek citlivosti
Kostní dřeň	>95 %	97,48 % (96,58–98,38 %)
Periferní krev	>95 %	96,88 % (95,60–98,16 %)

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 a 25 fixovaných buněčných suspenzí z periferní krve, bylo analyzováno minimálně 100 interfázních buněk, což pro každý typ vzorku znamenalo minimálně 2 500 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 sondy ATM Deletion Probe

Typ vzorku	Mezní výsledky
Kostní dřeň	9,77 %
Periferní krev	10,58 %

Laboratoře si musí ověřit mezní hodnoty pomocí 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 hodnocení přesnosti produktu byly použity dva vzorky: negativní vzorek kostní dřeně a uměle vytvořený vzorek kostní dřeně s nízkou pozitivitou, který byl vytvořen za účelem zpochybnění produktu 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 sondy ATM Deletion 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 tří studií klinická funkce na reprezentativních vzorcích určené populace: hematologicky získaný materiál fixovaný metanolem / kyselinou octovou v poměru 3 : 1. Velikost souboru v rámci této studie byla 27 vzorků, přičemž cílovou populaci tvořilo 13 pozitivních a 14 negativních vzorků, které se skládaly z 11 negativních vzorků kostní dřeně, 3 negativních vzorků periferní krve, 10 pozitivních vzorků kostní dřeně a 3 pozitivních vzorků periferní krve. Sonda správně určila stav vzorků ve všech případech.

Výsledky těchto testů byly analyzovány, aby poskytly hodnoty klinické citlivosti, klinické specificity a míru falešné pozitivity (FPR) pozitivních signálů pomocí jednodimenzního přístupu.

Tabulka 5. Klinická funkce sondy ATM Deletion Probe

Variabilní	Výsledek
Klinická senzitivita (míra skutečné pozitivity, TPR)	100,00 %
Klinická specificita (míra skutečné negativity, TNR)	100,00 %
Míra falešné pozitivity (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: 50558449LPH011J4

Pokud není systém Eudamed plně funkční, musí být SSP zpřístupněn veřejnosti na základě žádosti zaslané 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@cytocell.com
W: www.ogt.com

Reference

1. Stankovic, *et al*. Blood. 2004;103(1):291-300.
2. Dohner, *et al*. N Eng J Med. 2000;343:1910-1916.
3. Zent, *et al*. Blood. 2010;115(21):4154-4155.
4. Rossi, *et al*. Blood. 2013;121(8):1403-1412.
5. Khanna, *et al*. Nature Genetics. 1998;20(4):398-400.
6. Arsham, MS., Barch, MJ. and Lawce HJ. (eds.) (2017) *The AGT Cytogenetics Laboratory Manual*. New Jersey: John Wiley & Sons Inc.
7. 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.
8. 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
 ogt.com/IFU	**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 reagencie a složky, revize říjen 2009		
Symbol	**Název**	**Referenční číslo/čísla**
	**cs:** Obsah (nebo obsahuje)	N/A

Patenty a ochranné známky
CytoCell je registrovaná ochranná známka společnosti Cytocell Limited.

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

T: +44 (0)1223 294048
E: probes@cytocell.com
W: www.ogt.com

EC REP

Sysmex Europe SE
Deelböge 19 D
22297 Hamburg
NĚMECKO

W: www.sysmex-europe.com

Historie verzí IFU
V001 2026-10-29: Nový IFU z důvodu nařízení (EU) 2017/746