



A Sysmex Group Company



Návod k použití (IFU)

REF: CE-LPH 038-S / CE-LPH 038

BCR/ABL (ABL1) *Plus* Translocation, Dual Fusion Probe



POUZE K PROFESIONÁLNÍMU POUŽITÍ



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

Zamýšlený účel

Sonda CytoCell® BCR/ABL (ABL1) *Plus* Translocation, Dual Fusion Probe je kvalitativní, neautomatizovaný, fluorescenční *in situ* hybridizační test (FISH) používaný k detekci chromozomálních přeskupení mezi oblastí 9q34.1 na chromozomu 9 a oblastí 22q11.2 na chromozomu 22 se současnými deletcemi oblasti ASS1 na 9q34.1 na chromozomu 9 nebo bez nich v hematologicky získaných buněčných suspenzích fixovaných v Carnoyově roztoku (3 : 1 metanol / kyselina octová) od pacientů s potvrzenou nebo předpokládanou chronickou myeloidní leukémií (CML), akutní myeloidní leukémií (AML) nebo akutní lymfoblastickou leukémií (ALL).

Indikace k použití

Tento prostředek byl vytvořen jako doplněk k dalším klinickým a histopatologickým testům v rámci uznávaných diagnostických postupů a postupů klinické péče v případech, kdy by znalost stavu translokace BCR::ABL1 a stavu delece ASS1 byla důležitá pro klinickou léčbu.

Omezení

Toto zařízení je navrženo tak, aby detekovalo přeskupení s body zlomu v oblasti pokryté červenými a zelenými kopiemi nebo deletcemi v oblasti pokryté aqua kopiemi v této sadě sond, což zahrnuje oblasti ABL1, BCR a ASS1. Body zlomu mimo tuto oblast, variantní přeskupení plně obsažená v této oblasti nebo částečné ztráty této oblasti nemusí být tímto zařízením detekovány. Tento prostředek není určen k použití v rámci samostatné diagnostiky, doprovodné diagnostiky, prenatálního testování, skríningu populace, testování přímo u pacientů nebo provádění autotestování.

Tento prostředek nebyl validován pro typy vzorků, chorob nebo účely jiné, než ty, které jsou uvedeny v zamýšleném účelu.

Je koncipován jako doplněk dalších diagnostických laboratorních testů. Terapeutické postupy nesmí být zahajovány pouze na základě výsledků testů FISH.

Hlášení a interpretace výsledků FISH musejí být prováděny kvalifikovanými pracovníky v souladu s profesionálními standardy praxe a měly by zohledňovat další relevantní výsledky testů, a také klinické a diagnostické informace. Tento prostředek je určen 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 sekvenční 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 sekvenční 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 pro účely vizualizace. Fluorescenční mikroskopie potom umožňuje vizualizaci hybridizované sondy na cílovém materiálu.

Informace o sondě

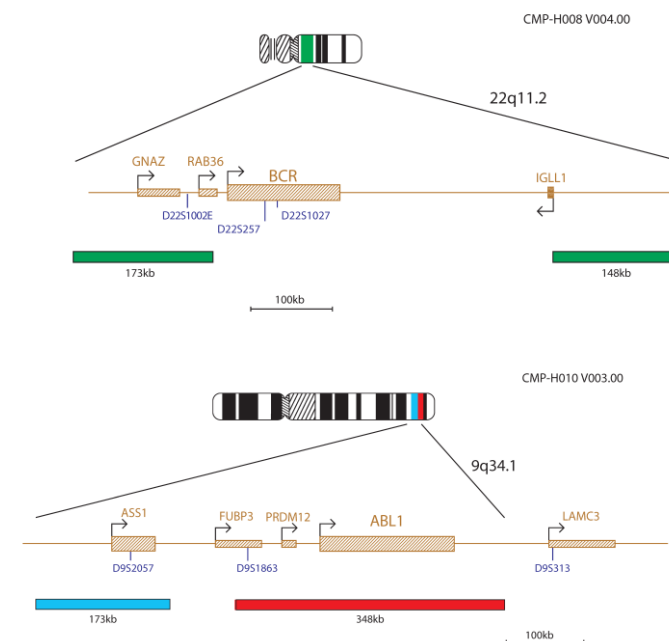
Gen BCR (BCR aktivátor RhoGEF a GTPáza) se nachází na 22q11.2, gen ABL1 (ABL protoonkogen 1, nереceptorová tyrozinkináza) se nachází na 9q34.1 a gen ASS1 (argininosukcinát syntetáza 1) se nachází na 9q34.1. Translokace mezi BCR a ABL1 vede ke vzniku fúzního genu BCR::ABL1. Přítomnost fúzního genu BCR::ABL1 má důležité diagnostické a prognostické implikace u celé řady hematologických poruch.

Translokace t(9;22)(q34.1;q11.2) je charakteristickým znakem chronické myeloidní leukémie (CML) a nalezneme ji přibližně u 90–95 % případů¹. Zbývající případy mají variantní translokaci, nebo mají kryptickou translokaci mezi 9q34.1 a 22q11.2, což není možno určit rutinní cytogenetickou analýzou¹. Fúze BCR::ABL1 se vyskytuje také u 25 % akutních lymfoblastických leukémií u dospělých (ALL) a u 2–4 % ALL u dětí¹. Toto přeskupení je prokázáno také v ojedinělých případech akutní myeloidní leukémie (AML)².

Translokace mezi chromozomy 9 a 22 mohou být doprovázeny ztrátou proximálních sekvencí na derivovaném chromozomu 9, včetně oblasti ASS1 (argininosukcinát syntetáza 1)³.

Parametry sondy

ASS1, 9q34.1, aqua
ABL1, 9q34.1, červená
BCR, 22q11.2, zelená



Mix zelených sond obsahuje sondu o délce 173 kb, centromerickou pro gen BCR, která zahrnuje geny GNAZ a RAB36. Druhá zelená sonda pokrývá oblast o délce 148 kb, telomerickou pro gen BCR, která zahrnuje část genu IGLL1.

Mix červených a aqua sond obsahuje červenou sondu o délce 348 kb, která zahrnuje gen ABL1, a aqua sondu o délce 173 kb, která zahrnuje gen ASS1.

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

- Pro diagnostické použití *in vitro*. Výhradně k laboratornímu profesionálnímu použití.
- Směsi v sondách obsahují formamid, což je teratogen; nevdechujte výpary a zamezte kontaktu s pokožkou. Zacházejte s ním opatrně; noste rukavice a laboratorní plášť.
- Zacházejte s DAPI opatrně; noste rukavice a laboratorní plášť.
- Nepoužívejte, pokud jsou lahvičky poškozeny nebo je obsah lahvičky jakkoli znehodnocen.
- Při výběru bezpečné likvidace tohoto produktu se řiďte místními předpisy pro likvidaci ve vaší lokalitě spolu s doporučeními uvedenými v bezpečnostním listu. To platí i pro poškozený obsah testovací sady.
- Všechny použité reagenty 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

DS1064/CE-cs v002.00/2025-08-29 (H008 v4 / H010 v3)

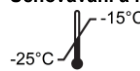
Strana 1 z 5

- jeho povahy a stupně nebezpečnosti a za jeho zpracování a likvidaci (nebo za zajištění jeho zpracování a likvidace) v souladu s platnými předpisy.
- Pracovníci musí být schopni rozlišit červenou, modrou a zelenou barvu.
 - Nedodržení předepsaného protokolu a reagensů může ovlivnit funkci a vést k falešně pozitivním/negativním výsledkům.
 - Sonda se nesmí fedit ani míchat s jinými sondami.
 - Není-li během kroku predenaturace v rámci protokolu použito 10 µl sondy, může to ovlivnit funkci a vést k falešně pozitivním/negativním výsledkům.
 - Všechny produkty by měly být před použitím validovány.
 - Interní kontroly by měly být prováděny pomocí nedotčených buněčných populací v testovacích vzorcích.

Definice teploty

- 20 °C / zmražené / v mrazničce: -25 °C až -15 °C
- 37 °C: +37 °C ± 1 °C
- 72 °C: +72 °C ± 1 °C
- 75 °C: +75 °C ± 1 °C
- Pokojeová teplota (RT): +15 °C až +25 °C

Uchovávání a manipulace

 Sadu je třeba uchovávat v mrazničce při teplotách -25 °C až -15 °C až do data expirace, uvedeného na štítku sady. Sonda a lahvičky s kontrastními barvivy musí být uloženy v temnu.

 Sonda FISH, kontrastní barvivo DAPI Antifade ES a hybridizační roztok zůstávají při běžném používání stabilní po celou dobu cyklů zmrazování a rozmrazování (přičemž jeden cyklus představuje vyjmutí lahvičky z mrazničky a její vložení zpět) – 5 cyklů pro 50 µl (5 testů) lahvičku sondy FISH, 10 cyklů pro 100 µl (10 testů) lahvičku sondy FISH a 15 cyklů pro 150 µl (15 testů) lahvičku kontrastního barviva. Je třeba minimalizovat vystavení světlu a pokud možno se mu zcela vyhnout. Složky skladujte v dodané nádobě odolné vůči působení světla. Složky použité a skladované za jiných podmínek, než jaké jsou uvedeny na etiketě, nemusí fungovat podle očekávání a mohou nepříznivě ovlivnit výsledky testu. Je třeba vynaložit veškeré úsilí na omezení expozice světlu a teplotním změnám.

Potřebné vybavení a materiál, které nejsou součástí dodávky

Je nutné používat kalibrovaná zařízení:

- Varná deska (s pevnou plotnou a přesným ovládáním teploty do 80 °C)
- Kalibrované mikropipety s variabilním objemem a špičkami v rozsahu od 1 µl do 200 µl
- Vodní lázeň s přesným ovládáním teploty od 37 °C do 72 °C
- Mikrocentrifugační zkumavky (0,5 ml)
- Fluorescenční mikroskop (viz oddíl Doporučení ohledně fluorescenčního mikroskopu)
- Mikroskop s fázovým kontrastem
- Čisté plastové, keramické nebo skleněné (z ohnivzdorného skla) lahvičky typu „Coplin“
- Chirurgické kleště
- Kalibrovaný pH metr (nebo pH indikační proužky schopné měřit pH v rozmezí 6,5–8,0)
- Vlhčená nádoba
- Imerzní olej na objektiv fluorescenčního mikroskopu
- Stolní odstředivka
- Mikroskopická sklíčka
- Krycí sklíčka 24 × 24 mm
- Stopky
- Inkubátor, 37 °C
- Lepidlo na bázi kaučukového roztoku
- Vířivý mixér
- Odměrné válce
- Magnetická míchačka
- Kalibrovaný teploměr

Volitelné vybavení, které není součástí dodávky

- Cytogenetická sušící komora

Potřebné reagensie, které nejsou součástí dodávky

- 20x solný roztok citrátu sodného (SSC)
- 100 % etanol
- Tween-20
- 1M hydroxid sodný (NaOH)
- 1M kyselina chlorovodíková (HCl)
- Demineralizovaná voda

Doporučení ohledně fluorescenčního mikroskopu

Pro 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:

Fluorofor	Excitace _{max} [nm]	Emise _{max} [nm]
Aqua	418	467
Zelená	495	521
Červená	596	615

Zajistěte, aby byl mikroskop vybaven příslušnými excitačními a emisními filtry, které pokrývají výše uvedené vlnové délky.

Pro optimální vizualizaci aqua spektra použijte jednopásmový aqua filtr, nebo pro simultánní vizualizaci zelených, červených a aqua fluoroforů použijte třípásmový červený/zelený/aqua 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 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 mikroskopická 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 sklíček⁴.

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 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 pomocí NaOH nebo HCl podle potřeby upravte na pH 7,0. Roztok skladujte ve vzduchotěsné nádobě při pokojové teplotě po dobu až 4 týdnů.

Roztok 0,4xSSC

Zřeďte 1 díl roztoku 20xSSC 49 díly demineralizované vody a řádně promíchejte. Zkontrolujte pH a pomocí NaOH nebo HCl podle potřeby upravte na pH 7,0. Roztok skladujte ve vzduchotěsné nádobě při pokojové teplotě po dobu až 4 týdnů.

Roztok 2xSSC, 0,05 % roztok Tween-20

Zřeďte 1 díl roztoku 20xSSC 9 díly demineralizované vody. Na 10 ml přidejte 5 µl roztoku Tween-20 a řádně promíchejte. Zkontrolujte pH a pomocí NaOH nebo HCl podle potřeby upravte na pH 7,0. Roztok skladujte ve vzduchotěsné nádobě při pokojové teplotě po dobu až 4 týdnů.

Protokol FISH

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

Příprava sklíčka

- Naneste buněčný vzorek na mikroskopické podložní sklíčko. Nechte ho uschnout. (**Volitelné při použití cytogenetické sušící komory:** K optimálnímu nanesení buněčných vzorků by měla komora pracovat při teplotě přibližně 25 °C a vlhkosti 50 %. Pokud cytogenetickou sušící komoru nemáte, použijte jako alternativu digestoř.)
- Sklíčko ponořte na 2 minuty do roztoku 2xSSC při pokojové teplotě. Neprotřepávejte.
- Dehydratujte pomocí etanolové série (70 %, 85 % a 100 %), vždy po dobu 2 minut při pokojové teplotě.
- Nechte ho uschnout.

Predenaturace

- Vyjměte sondu z mrazničky a nechte ji zahřát na pokojovou teplotu. Zkumavky před použitím krátce odstředte.
- Dbejte, aby byl roztok sondy rovnoměrně promíchán pipetou.
- Na každý test odeberte 10 µl sondy a přeneste ji do mikrocentrifugační zkumavky. Zbytek sondy vraťte rychle do mrazničky.
- Sondu a sklíčko se vzorkem umístěte na varnou desku a předehevívejte po dobu 5 minut při teplotě 37 °C (+/- 1 °C).
- Kápněte 10 µl směsi sondy na buněčný vzorek a opatrně jej překryjte krycím sklíčkem. Neprodyšně uzavřete pomocí lepidla na bázi kaučukového roztoku a nechte lepidlo úplně uschnout.

Denaturace

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

Hybridizace

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

Post-hybridizační vymývání

- Vyjměte DAPI z mrazničky a nechte ho zahřát na pokojovou teplotu.
- Opatrně sejměte krycí sklíčko a odstraňte všechny zbytky lepidla.
- Sklíčko ponořte na 2 minuty do roztoku 0,4xSSC (pH 7,0) při teplotě 72 °C (+/- 1 °C). Neprotřepávejte.
- Sklíčko osušte a na 30 sekund ponořte do roztoku 2xSSC, 0,05 % Tween-20 při pokojové teplotě (pH 7,0). Neprotřepávejte.
- Sklíčko osušte a na každý vzorek naneste 10 µl barviva DAPI antifade.
- Přikryjte krycím sklíčkem, odstraňte veškeré bubliny, uložte do temna a po dobu 10 minut nechte vyvíjet barvu.
- Zkontrolujte fluorescenčním mikroskopem (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 reagensů, které nejsou dodány nebo doporučeny společností 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 teploty jsou důležité, protože nedostatečná stringence může vést k nespecifickému navázání sondy a přílišná stringence 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 další nebo neočekávané signály.
- 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

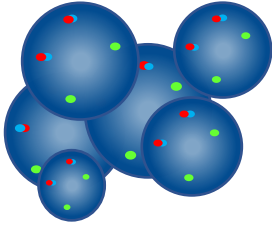
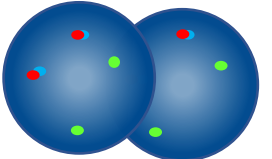
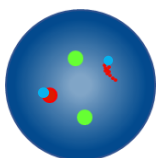
Vyhodnocení kvality sklíčka

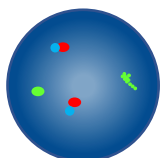
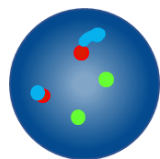
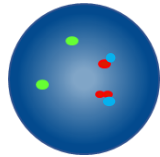
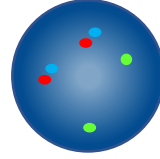
Sklíčko by se nemělo analyzovat, jestliže:

- jsou signály příliš slabé a nelze je proto analyzovat jednoduchými filtry – pro pokračování v analýze 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 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, případně pokud dva signály spojuje slabý pruh, počítejte je jako jeden signál
- Pokud si nejste jisti, zda lze buňku analyzovat, či nikoli, analýzu neprovádějte

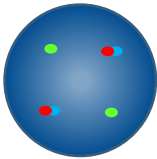
Pokyny pro analýzu	
	Nepočítejte – jádra jsou příliš těsně u sebe, takže není možno určit hranice
	Nepočítejte překrývající se jádra – nejsou viditelné všechny oblasti obou jader
	Počítejte jako dva červené/aqua fúzní signály a dva zelené signály – jeden ze dvou červených signálů je difúzní

	Počítejte jako dva červené/aqua fúzní signály a dva zelené signály – jeden ze dvou zelených signálů je difúzní
	Počítejte jako dva červené/aqua fúzní signály a dva zelené signály – jeden ze dvou aqua signálů je difúzní
	Počítejte jako dva červené/aqua fúzní signály a dva zelené signály – mezera v jednom červeném signálu je menší než dvě šířky sondy
	Počítejte jako dva červené/aqua fúzní signály a dva zelené signály – mezera mezi červeným a aqua signálem je menší než dvě šířky sondy

Předpokládané výsledky

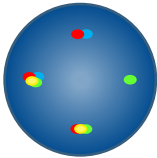
Předpokládaný normální vzor signálu

Třibarevná sonda Dual Fusion Probe

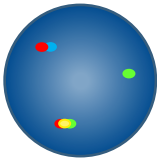


U normální buňky se předpokládají dvě červené/aqua fúzní signály a dva zelené signály (2ČA2Z).

Předpokládané abnormální vzory signálu



V buňce s přeskupením t(9;22)(q34.1;q11.2) se předpokládá jeden červený/aqua fúzní signál, jeden zelený signál, jeden červený/zelený fúzní signál, jeden červený/zelený/aqua fúzní signál (1ČA1Z1ČZ1ČZA).



V buňce s přeskupením t(9;22)(q34.1;q11.2) s delecí proximálního 9q a distálního 22q se předpokládá jeden červený/aqua fúzní signál, jeden zelený a jeden červený/zelený fúzní signál (1ČA1Z1ČZ).

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 distální sonda BCR může vykazovat až 2 signály na chromozomu 7 na 7q11.2.

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 prosím výrobci a případně svému příslušnému národnímu orgánu.

Kontaktní osoba pro vigilanci výrobce: vigilance@oqt.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 specifita

Analytická specifita je definována jako procento signálů, které hybridizují do správného lokusu a na žádné jiné místo. Byly analyzovány tři (3) chromozomální lokusy v každé z 100 metafázových buněk z pěti (5) vzorků, což znamená celkem 600 datových bodů. Bylo zmapováno umístění všech hybridizovaných sond a byl zaznamenán počet FISH signálů metafázových chromozomů hybridizovaných na správný lokus.

Analytická specifita 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 specifita sondy BCR/ABL (ABL1) Plus Translocation, Dual Fusion Probe

Cíl	Počet hybridizovaných metafázových chromozomů	Počet správně hybridizovaných lokusů	Analytická specifita	Interval spolehlivosti 95 %
9q34.1	200	200	100 %	98,12 % – 100 %
22q11.2	200	200	100 %	98,12 % – 100 %
9q34.1	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 translokaci BCR::ABL1 a delecii ASS1, 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 vzor signálu, a byly vyjádřeny jako procento s 95 % intervalem spolehlivosti.

Tabulka 2. Analytická citlivost sondy BCR/ABL (ABL1) Plus Translocation, Dual Fusion Probe

Typ vzorku	Kritéria citlivosti	Výsledek citlivosti
Kostní dřeň	>95 %	100,0 % (± N/A)

Charakteristika normálních mezních hodnot

Normální mezní data jsou definována 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 ze vzorků kostní dřeně, které byly považovány za negativní na translokaci BCR::ABL1, 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 vzor signálu pomocí horní hranice jednostranného 95 % intervalu spolehlivosti binomického rozdělení u vzorku normálního pacienta.

Tabulka 3. Charakteristika normálních mezních hodnot sondy BCR/ABL (ABL1) Plus Translocation, Dual Fusion Probe

Typ vzorku	Vzor signálu	Mezní výsledek
Kostní dřeň	1ÇA1Z1ČZ	2,95 %
	1ÇA1Z1ČZ1ČZA	2,95 %

Laboratoře si musí ověřit mezní hodnoty za použití vlastních dat^{5,6}.

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 vzorky: zbytkový materiál z deidentifikovaných vzorků kostní dřeně fixovaný v methanolu/kyselině octové v poměru 3 : 1 pocházející z fondu vzorků fixovaných buněk CytoCell. Velikost vzorku měla hodnotu tři (3) pokrývající očekávaný rozsah normální a nízká pozitivní.

Pro stanovení přesnosti v rámci různých dnů / 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 předpovídanou negativní klasifikací (u negativních vzorků).

Tabulka 4. Reprodukovatelnost a přesnost sondy BCR/ABL (ABL1) Plus Translocation, Dual Fusion Probe

Variabilní	Typ vzorku	Shoda
Reprodukovatelnost v rámci jednoho dne (mezi vzorky) a v různých dnech (mezi dny)	Negativní kostní dřeň	96,7 %
	Kostní dřeň nízká pozitivní 1ÇA1Z1ČZ	96,7 %
	Kostní dřeň nízká pozitivní 1ÇA1Z1ČZ1ČZA	83,3 %
Reprodukovatelnost mezi šaržemi	Negativní kostní dřeň	100,0 %
	Kostní dřeň nízká pozitivní 1ÇA1Z1ČZ	100,0 %
	Kostní dřeň nízká pozitivní 1ÇA1Z1ČZ1ČZA	77,8 %

Klinická funkce

Aby bylo zajištěno, že produkt odhalí záměrná přeskupení, byla pro tento produkt stanovena pomocí dvou studií klinická funkce na reprezentativních vzorcích určené populace: hematologicky získané buněčné suspenze fixované v Carnoyově roztoku (3 : 1 metanol / kyselina octová) od pacientů s potvrzenou nebo předpokládanou chronickou myeloidní leukémií (CML), akutní myeloidní leukémií (AML) nebo akutní lymfoblastickou leukémií (ALL), které jsou připraveny v souladu s pokyny laboratoře nebo zdravotnického zařízení. Studie měly kombinovanou velikost vzorku 125 vzorků, zahrnujících 99 BCR::ABL1 translokačních negativních a 26 BCR::ABL1 translokačních pozitivních vzorků. 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 specifity a míru falešné positivity (FPR) pozitivních signálů pomocí jednodimenzního přístupu.

Tabulka 5. Klinická funkce sondy BCR/ABL (ABL1) Plus Translocation, Dual Fusion Probe

Variabilní	Výsledek
Klinická senzitivita (míra skutečné positivity, TPR)	98,97 %
Klinická specifita (míra skutečné negativity, TNR)	99,73 %
Míra falešné positivity (FPR) = 1 – specifita	0,27 %

Souhrn bezpečnosti a funkce (SSP)

SSP je zpřístupněn veřejnosti prostřednictvím evropské databáze zdravotnických prostředků (Eudamed), kde je propojen se základním UDI-DI.

Adresa URL pro Evropskou databázi zdravotnických prostředků (EUDAMED): <https://ec.europa.eu/tools/eudamed>

Základní UDI-DI: 50558449LPH038JQ

Pokud není systém Eudamed plně funkční, musí být SSP zpřístupněn veřejnosti na základě žádosti zasláné e-mailem na adresu SSP@oqt.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.oqt.com

Reference

- 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 March 29]. (WHO classification of tumours series, 5th ed.; vol. 11). Available from: <https://tumourclassification.iarc.who.int/chapters/63>
- Soupir et al., Am J Clin Pathol 2007;127:642-650
- Robinson et al., Leukemia 2005;19(4):564-71
- Arsham, MS., Barch, MJ. and Lawce HJ. (eds.) (2017) *The AGT Cytogenetics Laboratory Manual*. New Jersey: John Wiley & Sons Inc.
- Mascarello JT, Hirsch B, Kearney HM, et al. Section E9 of the American College of Medical Genetics technical standards and guidelines: fluorescence in situ hybridization. Genet Med. 2011;13(7):667-675.
- Wiktor AE, Dyke DLV, Stupca PJ, Ketterling RP, Thorland EC, Shearer BM, Fink SR, Stockero KJ, Majorowicz JR, Dewald GW. *Preclinical validation of fluorescence in situ hybridization assays for clinical practice*. Genetics in Medicine. 2006;8(1):16–23.

Slovníček symbolů

EN ISO 15223-1:2021–„Zdravotnické prostředky–Symboly, které se budou používat s informacemi, dodá výrobce–Část 1: Všeobecné požadavky“ (© International Organization for Standardization)		
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: Přečtěte si 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
Symboly EDMA pro IVD reagenty a složky, revize říjen 2009		
Symbol	Název	Referenční číslo/čísla
	cs: Obsah (nebo obsahuje)	N/A

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



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

T: +44 (0)1223 294048
F: +44 (0)1223 294986
E: probes@cytoCell.com
W: www.ogt.com



Sysmex Europe SE
Bornbarch 1
22848 Norderstedt
NĚMECKO

T: +49 40 527260
W: www.sysmex-europe.com

Historie verzí IFU
V001 2023-06-13: Nový IFU z důvodu nařízení (EU) 2017/746
V002 2025-08-29: Odstranění značky UKCA.