



A Sysmex Group Company



Instrucțiuni de utilizare (IFU)

REF.: CE-LPH 036-S / CE-LPH 036

EV11 (MECOM) Breakpart Probe



NUMAI PENTRU UTILIZARE PROFESIONALĂ



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

Destinație de utilizare

Sonda CytoCell® EV11 (MECOM) Breakpart Probe este un test calitativ, ne-automatizat de hibridizare fluorescență *in situ* (FISH), utilizat pentru detecția rearanjamentelor cromozomiale cu implicarea regiunii 3q26.2 a cromozomului 3 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 cu rearanjamente *MECOM* (LAM) sau neoplasme mielodisplazice (SMD).

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 rearanjarea *MECOM* 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, verzi și aqua din acest set de sonde, care include regiunea *MECOM* (sonda verde), o regiune telomerică față de gena *MECOM* (sonda roșie) și o regiune centromerică față de gena *MECOM* (sonda aqua). 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 în 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

Rearanjările oncogenei *MECOM* (locusul complex MDS1 și EVI1), localizate la nivelul 3q26.2, se observă frecvent la pacienții cu neoplazii hematologice de origine mieloidă, inclusiv neoplasme mielodisplazice (SMD) și leucemie acută mieloidă cu rearanjamente *MECOM* (LAM). Expresia sa în celulele mioide neoplazice perturbă diferențierea mieloidă, reglarea ciclului celular și căile de semnalizare celulară¹.

Această expresie dereglată se datorează adesea unui rearanjament cromozomial cu implicarea regiunii 3q26.2, două cele mai frecvente (~ 40%) aberații fiind t(3;3)(q21;q26.2) și inv(3)(q21q26.2)¹. Au fost descrise peste 30 de rearanjamente 3q26.2 suplimentare, majoritatea dintre ele fiind caracterizate la nivel molecular¹.

Localizarea punctelor de ruptură în cazul acestor translocații și inversii este foarte variabilă. Rearanjările *MECOM* sunt foarte heterogene, iar detectarea lor prin metode citogenetice convenționale poate fi dificilă, FISH fiind un instrument util pentru detectarea lor. Regiunile de ruptură ale variantei t(3;v)(q26.2;v) se pot extinde de la 3' proximal de *MECOM* până la 5' distal de promotorul MDS1-EVI1, acoperite de sonda verde. Prin urmare, tiparul așteptat de semnale pentru aceste translocații variază în funcție de poziția punctului de ruptură². Testarea pentru rearanjamentele *MECOM* este recomandată atât în cazul SMD cât și în cazul LAM³.

LAM cu rearanjare *MECOM* este o boală agresivă cu speranță de supraviețuire scurtă, indiferent de procentul de blasti, fără diferențe de evoluție între cazurile cu inv(3)/t(3;3) în comparație cu rearanjamentele *MECOM* cu alți parteneri¹. Stratificarea riscului SMD încorporează variabile precum vârsta, severitatea citopeniilor și rezultatele citogenetice¹.

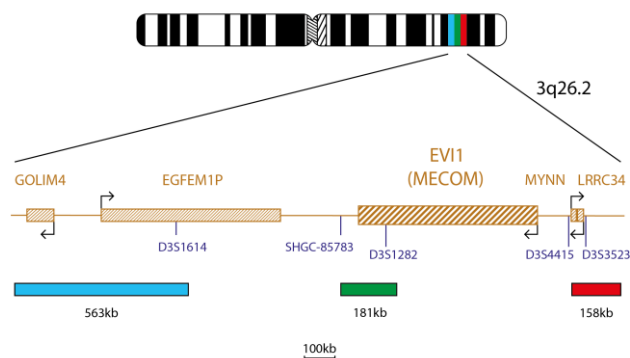
Specificații privind sonda

EV11, 3q26.2, roșu

EV11, 3q26.2, verde

EV11, 3q26.2, aqua

CMP-H021 v008.00



Componenta roșie a setului de sonde EV11 constă dintr-o sondă de 158 kb, localizată telomeric față de markerul D3S4415, și include gena *LRRC34*.

Componenta verde se atașează de o regiune de 181 kb, care include porțiunea centromerică a genei *EVI1* (*MECOM*) și ajunge până dincolo de markerul D3S1282. Componenta aqua se atașează de o regiune de 563 kb localizată centromeric față de gena *EVI1*, care include markerul D3S1614.

Materiale furnizate

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

Sondele sunt furnizate preamestecate 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

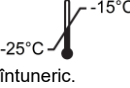
1. Pentru diagnosticare *in vitro*. Numai pentru utilizare profesională în laborator.
2. Amestecurile de sonde conțin formamidă, care este teratogen; nu inhalați vaporii și nu permiteți contactul cu pielea. Manevrați cu atenție; purtați mănuși și halat de laborator.
3. Manevrați DAPI cu atenție; purtați 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 periculozitate 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 predenaturare a protocolului poate afecta performanța și poate duce la rezultate fals pozitive/negative.
11. Toate produsele trebuie validate înainte de utilizare.
12. Controalele 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.

Echipamente și materiale necesare, dar neincluse în setul de livrare

Trebuie utilizate echipamente calibrate:

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

Echipamente opționale, care nu sunt furnizate

- Cameră de uscare de citogenetică

Reactivi necesari, dar care nu sunt furnizați

- Soluție salină - citrat de sodiu (SSC - saline-sodium citrate) 20x
- Etanol 100%
- Tween-20
- Hidroxid de sodiu (NaOH) 1M
- Acid clorhidric (HCl) 1M
- 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]
Aqua	418	467
Verde	495	521
Roșu	596	615

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 o singură bandă de trecere în spectrul aqua pentru vizualizarea optimă a spectrului aqua sau un filtru cu trei benzi de trecere în spectrul roșu/verde/aqua pentru vizualizarea simultană a fluoroforilor de culoare verde, roșie și aqua.

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) sau neoplasme mielodisplazice (SMD), 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 specimenelor, cultura, recoltarea și crearea lamelor⁴.

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

- 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).
- Imersați lama în SSC 2x timp de 2 minute la temperatura camerei (TC), fără agitare.
- Deshidratați în serii de etanol (70%, 85% și 100%), fiecare timp de 2 minute la TC.
- Lăsați să se usuce.

Predenaturarea

- Scoateți sonda din congelator și lăsați-o să se încălzească până la TC. Centrifugați scurt eprubetele înainte de utilizare.
- Asigurați-vă de faptul că soluția de sondă este amestecată uniform, cu o pipetă.
- Îndepărtați 10 µl de sondă per test și transferați într-o eprubetă de microcentrifugă. Puneți rapid la loc în congelator sonda rămasă.
- Plasați sonda și lama cu probă pentru preîncălzire pe o placă fierbinte de 37 °C (+/-1 °C) timp de 5 minute.
- 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

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

Hibridizarea

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

Spălările post-hibridizare

- Scoateți DAPI din congelator și lăsați să se încălzească la TC.
- Îndepărtați cu atenție lamela și toate urmele de adeziv.
- Imersați lama în SSC 0,4x (pH 7,0) la 72 °C (+/-1 °C) timp de 2 minute fără agitare.
- 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.
- Lăsați lama să se scurgă și aplicați 10 µl de agent anti-diminuare a colorării DAPI pe fiecare probă.
- 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 atașarea 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 exagerată 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

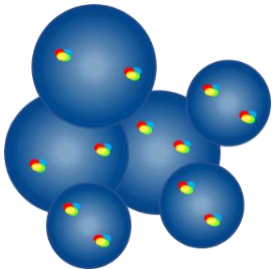
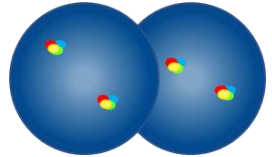
Evaluarea calității lamei

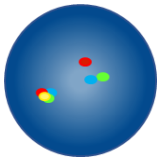
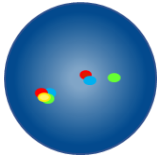
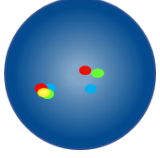
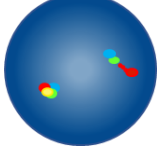
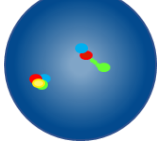
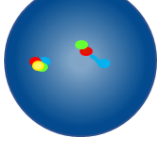
Lama nu trebuie analizată dacă:

- 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 obstruiește analiza
- > 50% dintre celule nu sunt hibridizate
- Există un exces de particule fluorescente între celule și/sau o ceață de 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

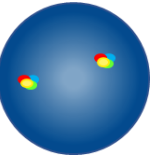
- Fiecare probă trebuie analizată și interpretată de doi analiști. Orice discrepanță trebuie rezolvată prin evaluarea de către un al treilea analist
- Fiecare analist trebuie să fie calificat adecvat în conformitate cu standardele recunoscute la nivel național
- Fiecare analist trebuie să atribuie un 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
- La analizarea sondelor de separare în trei culori, dacă există o breșă nu mai mare decât lățimile a 2 semnale între oricare dintre cele 3 semnale (roșu, verde, aqua) considerați ca semnal fără rearanjament/fuziune
- Dacă aveți orice dubii cu privire la caracterul analizabil al unei celule, nu o analizați

Linii directe privind analiza	
	Nu se analizează — nucleeele se află prea aproape unele de celelalte pentru a le putea determina hotarele
	Nucleeele suprapuse nu se analizează — nu sunt vizibile toate zonele celor două nuclee

	Considerați ca 2 semnale de fuziune — breșa dintre semnalul roșu și cel verde/aqua este mai mică decât două lățimi de sondă
	Considerați ca 2 semnale de fuziune — breșa dintre semnalul verde și cel roșu/aqua este mai mică decât două lățimi de sondă
	Considerați ca 2 semnale de fuziune — breșa dintre semnalul aqua și cel roșu/verde este mai mică decât două lățimi de sondă
	Considerați ca 2 semnale de fuziune — semnalul roșu este difuz în cadrul fuziunii din dreapta sus
	Considerați ca 2 semnale de fuziune — semnalul verde este difuz în cadrul fuziunii din dreapta sus
	Considerați ca 2 semnale de fuziune — semnalul aqua este difuz în cadrul fuziunii din dreapta sus

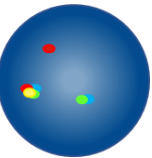
Rezultate așteptate

Tiparul de semnale normal așteptat

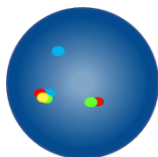


Într-o celulă normală se așteaptă detectarea a două semnale de fuziune roșu/verde/aqua (2RVA).

Tiparul de semnale anormale așteptat



Într-o celulă cu o t(3;3)(q21;26.2) sau t(3;v)(q26.2;v), cu puncte de ruptură distale față de sonda verde, tiparul de semnal așteptat va fi un semnal de fuziune roșu/verde/aqua, o fuziune verde/aqua și un semnal roșu (1RVA1VA1R).



Într-o celulă cu o inv(3)(q21q26.2) sau o t(3;v)(q26.2;v), cu puncte de ruptură proximal față de sonda verde, tiparul de semnal așteptat va fi un semnal de fuziune roșu/verde/aqua, o fuziune roșu/verde și un semnal aqua (1RVA1RV1A).

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

Interferențe/Substanțe interferente cunoscute relevante

Nu se cunosc interferențe/substanțe interferente relevante.

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 urgență al producătorului: vigilance@ogt.com

Pentru autoritățile naționale competente din UE, o listă de puncte de contact de urgență 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 per componentă. 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 fiecărei sonde din kit 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 a EV11 (MECOM) Breakapart Probe

Ținta	Numărul de cromozomi în metafază hibridizați	Numărul de locusuri cu hibridizare corectă	Specificitatea analitică	Interval de încredere de 95%
3q26.2	200	200	100%	98,12% - 100%
3q26.2	200	200	100%	98,12% - 100%
3q26.2	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 25 de suspensii de celule fixate provenite din măduva osoasă, care au fost considerate negative pentru o rearanjare MECOM, 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 tipar așteptat de semnale normal și au fost exprimate ca procent cu un interval de încredere de 95%.

Tabelul 2. Sensibilitatea analitică a EV11 (MECOM) Breakapart Probe

Tip de probă	Criterii de sensibilitate	Rezultat de sensibilitate
Măduvă osoasă	> 95%	99,14% (98,89%-99,39%)

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 25 de probe de măduvă osoasă, care au fost considerate negative pentru o rearanjare MECOM rezultând un minim de 5.000 de nuclee cărora li s-a atribuit un scor pentru fiecare tip de probă.

Valoarea 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 tipar 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 EV11 (MECOM) Breakapart Probe

Tip de probă	Rezultat de referință
Măduvă osoasă	4%

Laboratoarele trebuie să verifice valorile de referință în baza propriilor date^{5,6}.

Reproductibilitatea

S-au efectuat studii de reproductibilitate pentru a stabili:

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

Reproducibilitatea a fost stabilită în 3 laboratoare independente, în care au fost analizate în total 12 probe mascate, câte 6 pentru fiecare tipar de semnal (2 probe fără rearanjament, 2 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 2 replicare ale fiecărei probe în decursul a 5 zile neconsecutive.

În toate cele 3 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 3 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. Reproducibilitatea și precizia EV11 (MECOM) Breakapart Probe – Tipar de semnale de inversare

Variabilă	Tip de probă	Concordanța
Reproducibilitatea 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	63%
	Măduvă osoasă Înalt pozitiv	100%
Reproducibilitatea între loturi diferite (între loturi)	Măduvă osoasă Negativ	92%
	Măduvă osoasă Slab pozitiv	67%
	Măduvă osoasă Înalt pozitiv	100%

Tabelul 4b. Reproducibilitatea și precizia EV11 (MECOM) Breakapart Probe – Tipar de semnale de translocție

Variabilă	Tip de probă	Concordanța
Reproducibilitatea 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	98%
	Măduvă osoasă Înalt pozitiv	100%
Reproducibilitatea între loturi diferite (între loturi)	Măduvă osoasă Negativ	100%
	Măduvă osoasă Slab pozitiv	100%
	Măduvă osoasă Înalt pozitiv	100%

A fost efectuat un studiu suplimentar de reproductibilitate pentru a suplimenta rezultatele slab pozitive pentru tiparul de semnale de inversare, utilizând 2 probe cu niveluri diferite de pozitivitate scăzută (2x și 4x față de valoarea limită de normalitate) și 1 probă negativă 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 1 lot de sondă, evaluată pe 2 replici ale fiecărei probe, testată pe parcursul a 5 zile neconsecutive de către 2 operatori diferiți.

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

Tabelul 4c. Date justificative suplimentare pentru reproductibilitatea și precizia EV11 (MECOM) Breakapart Probe – Tipar de semnale de inversare

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 asigura faptul că produsul detectează rearanjamentele de destinație, performanța clinică a fost stabilită în cadrul a 3 studii efectuate pe probe reprezentative ale populației de destinație pentru produs: suspensii de celule de origine hematologică, fixate în soluție Carnoy (metanol/acid acetic 3:1) de la pacienți cu diagnostic confirmat sau suspectat de leucemie acută mieloidă (LAM) sau neoplasme mielodisplazice (SMD). Studiile au avut o dimensiune a eșantionului combinat de o sută optsprezece (118) specimene, cu o populație țintă de șapte (7) probe pozitive pentru translocăție și o sută unsprezece (111) negative pentru translocăție și un eșantion combinat de o sută nouăsprezece (119) specimene care includea o sută unsprezece (111) probe negative pentru inversare și opt (8) probe pozitive pentru inversare. 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 a EVI1 (MECOM) Breakapart Probe – Translocăție

Variabilă	Rezultat
Sensibilitate clinică (rata de rezultate real pozitive - TPR, true positive rate)	99,94%
Specificitate clinică (rata de rezultate real negative, TNR)	99,97%
Rata de rezultate fals pozitive (FPR, false positive rate) = 1 - specificitatea	0,03%

Tabelul 6. Performanța clinică a EVI1 (MECOM) Breakapart Probe – Inversare.

Variabilă	Rezultat
Sensibilitate clinică (rata de rezultate real pozitive - TPR, true positive rate)	96,26%
Specificitate clinică (rata de rezultate real negative, TNR)	99,28%
Rata de rezultate fals pozitive (FPR, false positive rate) = 1 - specificitatea	0,72%

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: 50558449LPH036JL

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.
Telefon: +44 (0)1223 294048
E-mail: techsupport@cytoCELL.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 December 21]. (WHO classification of tumours series, 5th ed.; vol. 11). Available from: <https://tumourclassification.iarc.who.int/chapters/63>
2. Ottema et al. Atypical 3q26/MECOM rearrangements genocopy inv(3)/t(3;3) in acute myeloid leukemia. *Blood* (2020)136(2):224–234.
3. Rack et al., Leukemia (2019) 33:1851–1867
4. Arsham, MS., Barch, MJ. and Lawce HJ. (eds.) (2017) *The AGT Cytogenetics Laboratory Manual*. New Jersey: John Wiley & Sons Inc.
5. 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.
6. 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	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 o marcă comercială înregistrată a Cytocell Ltd.



CytoCell Limited
Oxford Gene Technology
418 Cambridge Science Park
Milton Road
CAMBRIDGE
CB4 0PZ
REGATUL UNIT

Telefon: +44 (0)1223 294048
Fax: +44 (0)1223 294986
E-mail: probes@cytoCELL.com
Internet: www.ogt.com



Sysmex Europe SE
Bombarch 1
22848 Norderstedt
GERMANIA

Telefon: +49 40 527260
Internet: www.sysmex-europe.com

Istoricul versiunilor IFU

V001 2024-02-05: Noi IFU pentru Regulamentul (UE) 2017/746
V002 2025-08-29: Eliminarea mărcii UKCA