



A Sysmex Group Company



Návod k použití (IFU)

REF: CE-LPH 026-S / CE-LPH 026

## AML1/ETO (RUNX1/RUNX1T1) Translocation, Dual Fusion Probe



POUZE K PROFESIONÁLNÍMU POUŽITÍ



Další informace a více jazyků k dispozici na [ogt.com/IFU](http://ogt.com/IFU)

### Zamýšlený účel

Sonda CytoCell® AML1/ETO (RUNX1/RUNX1T1) Translocation, Dual Fusion Probe je kvalitativní, neautomatizovaný, fluorescenční *in situ* hybridizační test (FISH) používaný k detekci chromozomálních přeskupení mezi oblastí 21q22.1 na chromozomu 21 a oblastí 8q21.3 na chromozomu 8 v hematologicky získaných buněčných suspenzích fixovaných v Carnoyově roztoku (3 : 1 metanol / kyselina octová) od pacientů s potvrzenou nebo předpokládanou akutní myeloidní leukémií (AML).

### 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 *AML1::ETO (RUNX1::RUNX1T1)* byla důležitá pro klinickou léčbu.

### Omezení

Tento prostředek je navržen tak, aby detekoval přeskupení s body zlomu v oblasti pokryté červenými a zelenými kopiemi v této sadě sond, což zahrnuje oblasti *AML1* a *ETO (RUNX1 a RUNX1T1)*. Body zlomu mimo oblast nebo variantní přeskupení, plně obsažená v této oblasti, nemusí být tímto prostředkem detekována.

Tento prostředek není určen k použití v rámci samostatné diagnostiky, doprovodné diagnostiky, prenatálního testování, skrínungu 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 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 interfázových 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 *RUNX1* (transkripční faktor 1 skupiny *RUNX*) na 21q22.1 je fúován s genem *RUNX1T1* (partnerský transkripční korepresor 1 skupiny *RUNX1*) v oblasti Ensembl 8q21.3 v translokaci t(8;21)(q21.3;q22.1), která se nejběžněji vyskytuje u pacientů s akutní myeloidní leukémií (AML) FAB typu M2 (dle francouzsko-americko-britské klasifikace).

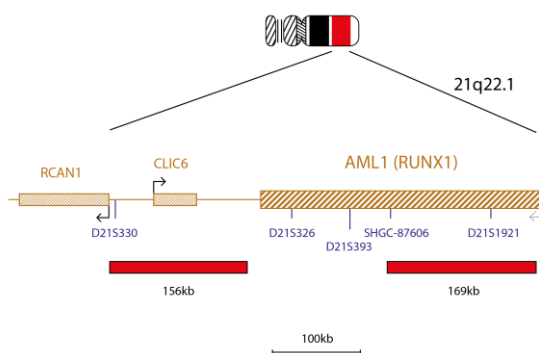
AML s fúzí *RUNX1::RUNX1T1* vzniklou z translokace t(8;21)(q21.3;q22.1) je podle klasifikace myeloidních novotvarů a akutní leukémie Světové zdravotnické organizace (WHO) uznaným onemocněním<sup>1</sup>. Tato translokace se nachází u 10–22 % pacientů s AML FAB typu M2 a celkově u 5–10 % případů AML, nejběžněji u dětí a mladých dospělých; a je indikátorem dobré prognózy<sup>3,4,5</sup>. Bod zlomu t(8;21) vzniká hlavně v intronu mezi exony 5 a 6 těsně před transkripční doménou a vytvořený fúzní protein obsahuje DNA vázající doménu *RUNX1*, fúzovanou do transkripčního faktoru *RUNX1T1*<sup>2</sup>.

Vedle reciproční translokace t(8;21) vytvářející fúzi *RUNX1::RUNX1T1* byly hlášeny také variantní translokace. Tato variantní přeskupení mohou být kryptická a při G-pruhování se dají snadno přehlédnout; avšak test FISH dokáže přítomnost takových přeskupení indikovat<sup>2</sup>.

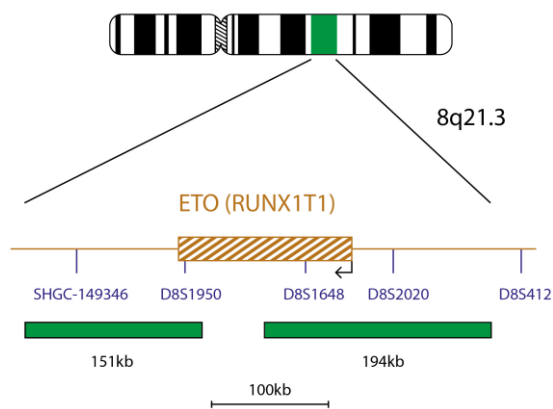
### Parametry sondy

AML1, 21q22.1, červená  
ETO, 8q21.3, zelená

CMP-H004 v006.00



CMP-H005 v005.00



Složka *AML1* se skládá z červeně označené sondy o délce 156 kb umístěné centromericky na gen *AML1 (RUNX1)*, která zahrnuje gen *CLIC6*, a sondy o délce 169 kb pokrývající část genu *AML1 (RUNX1)*, včetně markerů *SHGC-87606* a *D21S1921*. Složka *ETO (RUNX1T1)*, označená zeleně, se skládá ze sondy o délce 151 kb pokrývající centromerickou část genu a přilehlou oblast, a ze sondy o délce 194 kb pokrývající telomerickou část genu a přilehlou oblast.

### 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 % 20x solného roztoku citrátu sodného (SSC)) a jsou připraveny k použití.

**Kontrastní barvivo:** 150 µl v jedné lahvičce (15 testů)

Kontrastním barvivem je DAPI Antifade ES (0,125 µg/ml DAPI (4,6-diamidino-2-fenylnindol) v montážním médiu na bázi glycerolu).

### Varování a bezpečnostní pokyny

- 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.

DS546/CE-cs v001.00/2023-01-11 (H004 v6 / H005 v5)

Strana 1 z 5

- 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 reagentie 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.
- Pracovníci musí být schopni rozlišit červenou, modrou a zelenou barvu.
- Nedodržení předepsaného protokolu a reagentií může ovlivnit funkci a vést k falešně pozitivním/negativním výsledkům.
- Sonda se nesmí ředit 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
- Pokojevá 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 barvami 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.

Sada 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 barvami musí být uloženy v temnu.

#### Potřebné vybavení a materiál, které nejsou součástí dodávky

Je nutné používat kalibrovaná zařízení:

- Varná deska (s pevnou plotnou a přesným ovládním teploty do 80 °C)
- Kalibrované mikropipety s různým objemem a špičkami v rozsahu od 1 µl do 200 µl
- Vodní lázeň s přesným ovládním 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 odštědivka
- Mikroskopová sklička
- Krycí sklička 24 × 24 mm
- Stopky
- Incubátor 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 reagentie, které nejsou součástí dodávky

- 20x fyziologický 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 100wattovou rtuťovou lampu nebo její ekvivalent 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 <sub>max</sub> [nm]	Emise <sub>max</sub> [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 autofluorescenci. 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 k použití u hematologicky získaných buněčných suspenzí fixovaných v Carnoyově fixačním roztoku (3 : 1 metanol / kyselina octová) od pacientů s potvrzenou nebo předpokládanou akutní myeloidní leukémií (AML), které jsou připraveny v souladu s pokyny laboratoře nebo zdravotnického zařízení. Na mikroskopová sklička naneste vzorky usušené na vzduchu v souladu se standardními cytogenetickými postupy. *Cytogenetics Laboratory Manual AGT* (Příručka pro cytogenetické laboratoře) obsahuje doporučení pro odběr, kultivaci a získávání vzorků a pro přípravu skliček<sup>6</sup>.

#### 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 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 sklička

- Naneste buněčný vzorek na mikroskopové skličko. Nechte ho uschnout. **(Volitelně při použití cytogenetické sušící komory:** K optimálnímu nanesení buněčných vzorků by měla komora pracovat při teplotě přibližně 25 °C a 50 % vlhkosti. Pokud cytogenetickou sušící komoru nemáte, použijte jako alternativu digestoř.)
- Skličko 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. Laboratorní lahvičky 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 skličko se vzorkem umístěte na varnou desku a předeheďte po dobu 5 minut při teplotě 37 °C (+/- 1 °C).
- Kápněte 10 µl směsi sondy na buněčný vzorek a opatrně jej překryjte krycím skličkem. Neprodyšně uzavřete pomocí lepidla na bázi kaučukového roztoku a nechte lepidlo úplně uschnout.

#### Denaturace

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

#### Hybridizace

- Skličko 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.
- Skličko ponořte na 2 minuty do roztoku 0,4×SSC (pH 7,0) při teplotě 72 °C (+/- 1 °C). Neprotřepávejte.
- Skličko osušte a na 30 sekund ponořte do roztoku 2×SSC, 0,05 % Tween-20 při pokojové teplotě (pH 7,0). Neprotřepávejte.
- Skličko osušte a na každý vzorek naneste 10 µl DAPI antifade.
- Přikryjte krycím sklíčkem, odstraňte veškeré bubliny, uložte do temna a po dobu 10 minut nechte vyvíjet barvu.
- Zkontrolujte pomocí fluorescenčního mikroskopu (viz **Doporučení ohledně fluorescenčního mikroskopu**).

### Doporučení pro zpracování

- Vypalování nebo stárnutí sklíček může redukovat fluorescenční signál.
- Podmínky hybridizace mohou být nepříznivě ovlivněny použitím reagentů, které nedodává nebo nedoporučuje společnost Cytocell Ltd.
- K měření teplot roztoků, vodních lázní a inkubátorů používejte kalibrovaný teploměr, protože tyto teploty jsou velmi důležité k zajištění optimální funkce produktu.
- Koncentrace promývacího roztoku, pH a teplota jsou důležité, protože nedostatečná důslednost může vést k nespecifickému vázání sondy a přílišná důslednost naopak k nedostatečnému signálu.
- Neúplná denaturace může vést k nedostatečnému signálu a příliš dlouhá denaturace může rovněž způsobit nespecifické vázání.
- Nadměrná hybridizace může vést k dodatečným nebo neočekávaným signálům.
- Uživatelé musejí před použitím testu pro diagnostické účely optimalizovat protokol pro své vlastní vzorky.
- Neoptimální podmínky mohou vést k nespecifickému vázání, které může být nesprávně interpretováno jako signál sondy.

### Interpretace výsledků

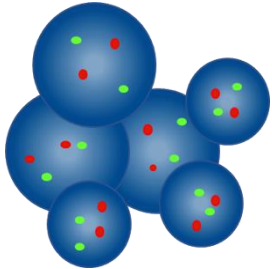
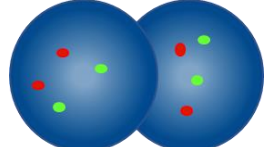
#### Vyhodnocení kvality sklíčka

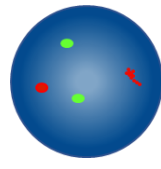
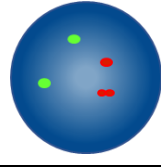
Skličko by se nemělo analyzovat, jestliže:

- 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

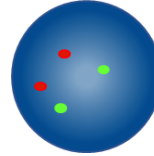
- Každý vzorek musí analyzovat a vyhodnotit dva analytici. Jakékoliv nesrovnalosti se musí vyřešit hodnocením třetího analytika.
- Všichni analytici musí mít odpovídající kvalifikaci v souladu s uznávanými národními standardy.
- Všichni analytici musí provést nezávislé hodnocení 100 jader každého vzorku. 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.
- Vyhnete 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 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

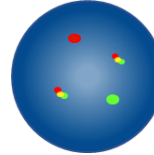
### Předpokládané výsledky

#### Předpokládaný vzorec normálního signálu



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

#### Předpokládaný vzorec abnormálního signálu



V buňce s translokací t(8;21)(q21.3;q22.12) bude mít předpokládaný vzorec signálu jeden červený, jeden zelený a dvě fúze (1Č1Z2F).

U aneuploidních/nevyvážených vzorků jsou možné jiné vzory signálů.

#### Znamé relevantní interference / interferující látky

Nejsou známy žádné relevantní interference / interferující látky.

#### Znamá zkřížená reaktivita

Zkřížená reaktivita není známa.

#### Hlášení závažných událostí

Pro pacienta / uživatele / třetí stranu v Evropské unii a v zemích se shodným regulačním režimem (nařízení (EU) 2017/746 o diagnostických zdravotnických prostředcích *in vitro*); pokud během používání tohoto prostředku nebo v důsledku jeho používání došlo k závažné události, nahláste ji výrobci a svému příslušnému národnímu orgánu.

Pokud došlo k závažným událostem v jiných zemích, nahláste je prosím výrobci a případně svému příslušnému národnímu orgánu.

Kontaktní osoba pro vigilanci výrobce: [vigilance@ogt.com](mailto: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](https://health.ec.europa.eu/medical-devices-sector/new-regulations/contacts_en)

#### Specifické funkční charakteristiky

##### Analytická specifická

Analytická specifická je procento signálů, které hybridizují do správného lokusu a na žádné jiné místo. Analytická specifická byla stanovena analýzou celkem 400 cílových lokusů. Byly analyzovány dva chromozomální lokusy v každé z 20 metafázových buněk z 5 vzorků, což znamená celkem 400 datových bodů. Analytická specifická byla vypočtena jako počet signálů FISH, které hybridizovaly na správný lokus děleno celkovým počtem hybridizovaných signálů FISH.

Analytická specifická jednotlivých sond v sadě byla vypočtena jako počet signálů FISH metafázového chromozomu hybridizovaných na správný lokus vydělený celkovým počtem hybridizovaných FISH signálů metafázového chromozomu, tento výsledek byl vynásoben číslem 100 a vyjádřen jako procento s intervalem spolehlivosti 95 %.



Tabulka 1. Analytická specifita sondy AML1/ETO (RUNX1/RUNX1T1) Translocation, Dual Fusion Probe

Sonda	Cíl	Počet hybridizovaných metafázových chromozomů	Počet správně hybridizovaných lokusů	Analytická specifita (%)	Interval spolehlivosti 95 % (%)
AML1, červená	21q22.1	200	200	100	98,12–100
ETO, zelená	8q21.3	200	200	100	98,12–100

#### Analytická citlivost

Analytická citlivost je procento započítatelných interfázních buněk s předpokládaným vzorcem normálního signálu. U každé z 25 suspenzí buněk kostní dřeně fixovaných Carnoyovým roztokem, které byly považovány za karyotypově normální, bylo analyzováno minimálně 200 interfázních buněk, což pro každý vzorek znamenalo minimálně 5 000 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 AML1/ETO (RUNX1/RUNX1T1) Translocation, Dual Fusion Probe

Počet buněk s předpokládanými vzorci signálu	Celkový počet buněk se započítatelnými signály	Analytická citlivost (%)	Interval spolehlivosti 95 % (%)
4965	5000	99,3	99,02, 99,58

#### Charakteristika normálních mezních hodnot

Normální mezní hodnota ve spojení se sondami FISH je maximální procento započítatelných interfázních buněk se specifickým abnormálním signálním vzorcem, při kterém se vzorek považuje pro tento signální vzor za normální.

Normální mezní hodnota byla stanovena pomocí vzorků negativních na přeskupení, které má sonda detekovat, a beta inverzní funkce. U každého vzorku byly dvěma nezávislými analytiky zaznamenány vzorce signálů 100 interfázních jader, celkem 200 jader v každém vzorku.

Mezní hodnota byla určena pomocí funkce  $\beta$ -inverze (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 AML1/ETO (RUNX1/RUNX1T1) Translocation, Dual Fusion Probe

Vzorec abnormálního signálu	Počet vzorků analyzovaných pro stanovení mezních hodnot	Počet jader vyhodnocených u jednotlivých vzorků	Maximální počet falešně pozitivních vzorců signálů	Normální mezní hodnota (%)
1C1Z2F	1290	200	1	2,3

Laboratoře si musí ověřit mezní hodnoty pomocí vlastních dat<sup>7,8</sup>.

#### Reprodukovatelnost

Byly provedeny studie reprodukovatelnosti za účelem zjištění:

- reprodukovatelnosti na 3 pracovištích v rámci jednoho dne (mezi vzorky),
- reprodukovatelnosti na 3 pracovištích v rámci různých dnů (mezi dny),
- reprodukovatelnosti na 3 pracovištích v rámci různých pracovišť (mezi pracovišti),
- reprodukovatelnosti na jednom pracovišti v rámci různých šarží (mezi šaržemi).

Reprodukovatelnost byla stanovena třemi nezávislými laboratořemi, které testovaly šest zaslepených vzorků (dva negativní na přeskupení, dva vzorky s nízkou pozitivitou, které odpovídaly 1–3násobku mezní hodnoty, a dva vysoce pozitivní vzorky, které obsahovaly více než 45 % buněk pozitivních na přeskupení). Analýza byla provedena pomocí dvou opakovaní jednotlivých vzorků v průběhu pěti dnů, které nenásledovaly po sobě.

Všechny tři laboratoře prováděly testování v rámci stejného dne, v rámci různých dnů a v rámci různých laboratoří s použitím stejné šarže sondy, přičemž jedna z laboratoří také provedla testování reprodukovatelnosti v rámci různých šarží, kdy použila tři různé šarže sondy.

Reprodukovatelnost byla stanovena na základě shody mezi různými proměnnými zkoumanými při jednotlivých testech.

Tabulka 4. Reprodukovatelnost sondy AML1/ETO (RUNX1/RUNX1T1) Translocation, Dual Fusion Probe

Studie	Kritéria	Výsledek
V rámci jednoho dne / různých dnů / různých laboratoří	90 % shoda negativní klasifikace	100 %
	95 % shoda klasifikace vysoké positivity	100 %
V rámci různých šarží	90 % shoda negativní klasifikace	100 %
	95 % shoda klasifikace vysoké positivity	100 %

#### Klinická funkce

Aby bylo zajištěno, že sonda AML1/ETO (RUNX1/RUNX1T1) Translocation Dual Fusion Probe odhalí záměrná přeskupení, byla pro tento produkt stanovena pomocí pěti studií klinická funkce na reprezentativních vzorcích určené populace: zbytkový materiál fixovaný metanolem / kyselinou octovou v poměru 3 : 1. Studie zahrnovaly kombinovaný soubor šesti set třiceti čtyř (634) vzorků s celkovým počtem třiceti pěti (35) pozitivních a pěti set devadesáti devíti (599) negativních vzorků ve všech laboratořích. Bylo zjištěno, že shoda/neshoda výsledků splňuje kritéria přijatelnosti pro tuto studii.

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 AML1/ETO (RUNX1/RUNX1T1) Translocation, Dual Fusion Probe

Variabilní	Výsledek
Klinická senzitivita (míra skutečné positivity, TPR)*	99,74 %
Klinická specifita (míra skutečné negativity, TNR)*	99,90 %
Míra falešné positivity (FPR) = 1–specifita*	0,10 %

#### 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: 50558449LPH026JH

Pokud není systém Eudamed plně funkční, musí být SSP zpřístupněn veřejnosti na základě žádosti zasláné e-mailem na adresu [SSP@ogt.com](mailto: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](mailto:techsupport@cytoCELL.com)











W: [www.ogt.com](http://www.ogt.com)

#### Reference

- Swerdlow, et al. (eds.) WHO Classification of Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissue, Lyon, France, 4th edition, IARC, 2017
- Reikvam H, et al. J Biomed Biotechnol. 2011; 2011:104631.
- Grimwade, et al. Blood. 2001;98(5):1312-1320.
- Harrison, et al. Journal of Clinical Oncology. 2010;28(16):2674-2681.
- Grimwade, et al. Blood. 2010;116(3):354-365.
- 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 (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: <i>In vitro</i> zdravotnický diagnostický prostředek	5.5.1
	cs: Množství dostačuje k provedení <n> testů	5.5.5
	cs: Jedinečný identifikátor prostředku	5.7.10
<b>Symboly EDMA pro IVD reagencie a složky, revize říjen 2009</b>		
<b>Symbol</b>	<b>Název</b>	<b>Referenční číslo/čísla</b>
	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](mailto:probes@cytoCELL.com)  
W: [www.ogt.com](http://www.ogt.com)



**Sysmex Europe SE**  
Bornbarch 1  
22848 Norderstedt  
NĚMECKO

T: +49 40 527260  
W: [www.sysmex-europe.com](http://www.sysmex-europe.com)

#### Historie verzí IFU

V001.00 2023-01-11: Nový IFU z důvodu nařízení (EU) 2017/746.