



A Sysmex Group Company



Lietošanas instrukcijas

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

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



TIKAI PROFESIONĀLAM LIETOJUMAM



Papildinformācija un informācija citās valodās ir pieejama vietnē ogt.com/IFU

Paredzētais lietošanas mērķis

Zonde CytoCell® BCR/ABL (ABL1) Plus Translocation, Dual Fusion Probe ir kvalitatīvs, neautomatizēts fluorescences *in situ* hibridizācijas (fluorescence in situ hybridisation —FISH) tests, kas paredzēts hromosomālo pārkārtojumu noteikšanai starp 9 hromosomas reģionu 9q34.1 un 22. hromosomas reģionu 22q11.2 ar vai bez vienlaicīgiem ASS1 reģiona delēcijas gadījumiem 9. hromosomas reģionā 9q34.1 Karnuā šķīdumā (3:1 metanols/etiķskābe) fiksētās hematoloģiski iegūtās šūnu suspensijās no pacientiem, kuriem ir konstatēta hroniska mieloleikoze (HML), akūta mieloidā leikēmija (AML) vai akūta limfoblastiskā leikēmija (ALL) vai arī pastāv aizdomas par tās esamību.

Lietošanas indikācijas

Šī ierīce ir paredzēta kā citu klīnisko un histopatoloģisko testu papildinājums atzītās diagnostikas un klīniskās aprūpes metodēs, kad informācija par BCR::ABL1 translokācijas statusu ASS1 delēcijas statusu ir svarīga klīniskajai pārvaldībai.

Ierobežojumi

Šī ierīce ir paredzēta pārkārtojumu ar pārtraukumpunktiem noteikšanai reģionā, ko aptver sarkanie un zaļie kloni, vai delēcijas gadījumus reģionā, ko aptver zilie kloni šajā zonžu komplektā, kurā iekļauts reģions ABL1, BCR un ASS1. Izmantojot šo ierīci, iespējams, ka netiek noteikti pārtraukumpunkti ārpus šī reģiona, pārkārtojumu varianti, kas pilnībā ietilpst šajā reģionā, vai daļēji šī reģiona zudumi. Šī ierīce nav paredzēta: izmantošanai autonoma diagnostikas līdzekļa statusā, papildu diagnostikas nolūkā, prenatalai testēšanai, konkrētu populāciju skrīningam, testēšanai ārpus laboratorijas un paštestēšanai.

Šī ierīce nav validēta paraugu tiptiem, slimību tiptiem vai mērķiem, kas neatbilst paredzētajam lietošanas mērķim.

Tā ir paredzēta kā citu diagnostisko laboratorijas testu palīg līdzeklis, un lēmumus par terapiju nedrīkst pieņemt, vadoties tikai pēc FISH testa rezultātiem.

Ziņošana par FISH testa rezultātiem un to interpretēšana ir jāveic atbilstoši kvalificētam personālam saskaņā ar profesionālajiem prakses standartiem, un ir jāņem vērā citu testu rezultāti, klīniskā un diagnostikas informācija. Šī ierīce ir paredzēta tikai profesionālam lietojumam laboratorijā.

Neievērojot attiecīgo protokolu, var tikt ietekmēta veiktspēja un iegūti aplami pozitīvi vai aplami negatīvi rezultāti.

Testa principi

Fluorescences *in situ* hibridizācija (fluorescence in situ hybridisation — FISH) ir metode, kas ļauj noteikt DNS sekvenču metafāzu hromosomās vai interfāzes kodolos fiksētiem citogēnētiskiem paraugiem. Šajā metodē tiek izmantotas DNS zondes, kas hibridizējas ar veselām hromosomām vai atsevišķām unikālām sekvencēm un kalpo kā efektīvs G joslu citogēnētiskās analīzes palīg līdzeklis. Šo metodi tagad var lietot kā būtisku izmeklēšanas instrumentu prenatalajā, hematoloģiskajā un solidu audzēju hromosomālajā analīzē. Mērķa DNS pēc fiksācijas un denaturēšanas ir pieejama hibridizācijai ar līdzīgi denaturētu,

fluorescējoši marķētu DNS zondi, kurai ir papildu sekvenču. Pēc hibridizācijas nesaisītā un nespecifiski saistītā DNS zonde tiek noņemta un DNS tiek kontrastēta vizualizācijai. Pēc tam, izmantojot fluorescences mikroskopiju, hibridizēto zondi var vizualizēt mērķa materiālā.

Informācija par zondi

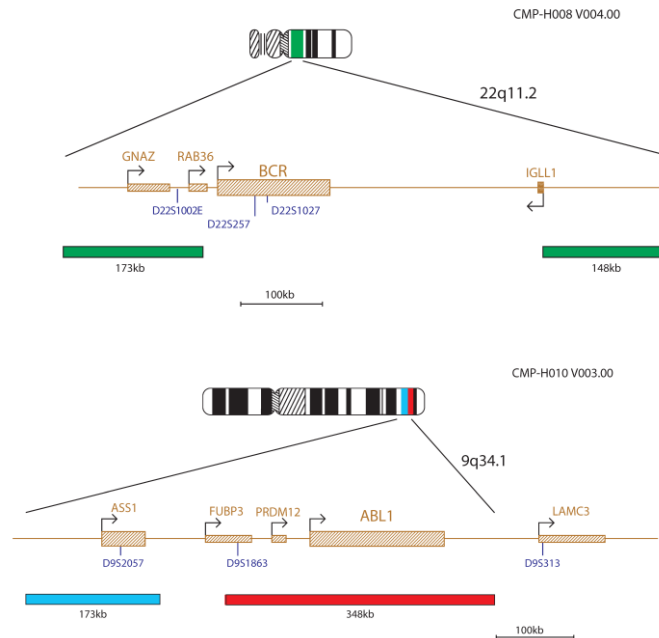
BCR (RhoGEF un GTPase BCR aktivators) gēna atrašanās vieta ir 22q11.2, ABL1 (ABL protoonkogēns 1, neregulatoru tirozīnkināze) gēna atrašanās vieta ir 9q34.1, un ASS1 (1. arginīna-sukcināta sintāzes) gēna atrašanās vieta ir 9q34.1. Translokācija starp BCR un ABL1 izraisa BCR::ABL1 fūzijas gēna klātbūtni. BCR::ABL1 fūzijas klātbūtni ir nozīmīga diagnožu un prognožu noteikšanā dažādu hematoloģisko traucējumu gadījumā.

Raksturīga hroniskas mieloleikozes (HML) iezīme ir t(9;22)(q34.1;q11.2) translokācija, kas ir konstatējama 90–95%¹ gadījumos. Atlikušajos gadījumos pastāv variantu translokācija vai kriptiska translokācija starp reģionu 9q34.1 un 22q11.2, kuru nevar identificēt, izmantojot parasto citogēnētisko analīzi.¹ BCR::ABL1 fūzijas arī ir konstatējamas 25% akūtas limfoblastiskās leikēmijas (ALL) gadījumos pieaugušiem pacientiem un 2–4% ALL gadījumu pediatriiskajiem pacientiem.¹ Šis pārkārtojums arī ir konstatējams retos akūtas mieloidās leikēmijas (AML)² gadījumos.

Vienlaikus ar translokāciju starp 9. un 22. hromosomu ir iespējams proksimālo sekvenču zudums 9. derivatīvajā hromosomā, tostarp ASS1(1. arginīna-sukcināta sintāzes) reģionā³.

Zondes specifikācija

ASS1, 9q34.1, zila
ABL1, 9q34.1, sarkana
BCR, 22q11.2, zaļa



Zaļajā zondes maisījumā ir 173 kb zonde centromēri BCR gēnam, kas aptver GNAZ un RAB36 gēnu. Otrā zaļajā zonde nosedz 148 kb reģionu telomēri BCR gēnam, kas aptver daļu no IGLL1 gēna.

Sarkanajā un zilajā zondes maisījumā ir 348 kb sarkanā zonde, kas aptver ABL1 gēnu, un 173 kb zilā zonde, kas aptver ASS1 gēnu.

Nodrošinātie materiāli

Zonde: 50 µl flakonā (5 testi) vai 100 µl flakonā (10 testi).

Zondes tiek nodrošinātas iepriekš sajauktā veidā hibridizācijas šķīdumā (< 65% formamīds; < 20 mg dekstrāna sulfāts; < 10% 20x citrāta fizioloģiskais šķīdums (salīne-sodium citrate —SSC)) un ir gatavas lietošanai.

Kontrasta krāsviela: 150 µl flakonā (15 testi).

Kontrasta krāsviela ir DAPI luminiscences uzturēšanas šķīdums ES (0,125 µg/ml DAPI (4,6-diamidino-2-fenilindols) šķīdumā uz glicerīna bāzes).

Brīdinājumi un piesardzības pasākumi

- Lietošanai *in vitro* diagnostikā. Tikai profesionālam lietojumam laboratorijā.
- Zondes maisījumos ietilpst formamīds, kas ir teratogēns, tādēļ nedrīkst pieļaut to izgarojumu ieelpošanu un nonākšanu saskarē ar ādu. Lietojot ievērojiet piesardzību; valkājiet cimdus un laboratorijas virsvalku.
- Rīkojieties ar DAPI piesardzīgi; valkājiet cimdus un laboratorijas virsvalku.
- Nelietot, ja flakons(-i) ir bojāts(-i) vai flakona saturs jebkāda veidā ir bojāts.
- Izpildiet vietējos utilizācijas noteikumus, kā arī drošības datu lapā sniegtos ieteikumus par drošu šī produkta utilizāciju. Tas attiecas arī uz bojātu testa komplekta saturu.
- Utilizējiet visus izmantotos reaģentus un jebkādas citus piesārņotus vienreizlietojamus materiālus, ievērojot procedūras attiecībā uz infekcioziem vai potenciāli infekcioziem atkritumiem. Katra laboratorija ir atbildīga par rīcību

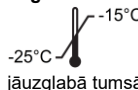
ar cietajiem un šķidrājiem atkritumiem atbilstoši to veidam un bīstamības pakāpei, kā arī par to apstrādi un utilizāciju (līdz šim un turpmāk) saskaņā ar spēkā esošajiem noteikumiem.

7. Operatoriem jāspēj atšķirt sarkano, zilo un zaļo krāsu.
8. Neievērojot norādīto protokolu un norādījumus par reaģentiem, var tikt ietekmēta veikspēja un iegūti aplami pozitīvi/negatīvi rezultāti.
9. Zondi nedrīkst atšķaidīt vai veidot maisījumus ar citām zondēm.
10. Ja protokola iepriekšējās denaturēšanas fāzes laikā netiek izmantoti 10 µl no zondes, var tikt ietekmēta veikspēja un iegūti aplami pozitīvi/negatīvi rezultāti.
11. Pirms lietošanas visi produkti ir jāapstiprina.
12. Iekšējās kontroles jāveic, testēšanas paraugos izmantojot neietekmētas šūnu populācijas.

Temperatūras definīcijas

- -20 °C/saldēts/saldētavā: No -25 °C līdz -15 °C
- 37 °C: +37 °C ± 1 °C
- 72 °C: +72 °C ± 1 °C
- 75 °C: +75 °C ± 1 °C
- Istabas temperatūra (Room Temperature — RT): No +15 °C līdz +25 °C

Uzglabāšana un lietošana

 Komplekts ir jāglabā saldētavā temperatūrā no -25 °C līdz -15 °C līdz pat derīguma termiņa beigu datumam, kas norādīts uz komplekta etiķetes. Zondes un kontrasta krāsvielas flakoni ir jāuzglabā tumšā.



FISH zonde, DAPI Antifade ES kontrastviela un hibridizācijas šķīdums paliek stabili visos sasaldēšanas-atkausēšanas ciklos parastās lietošanas laikā (kur viens cikls ir flakona izņemšana no saldētavas un ievietošana tajā atpakaļ) — 5 cikli 50 µl (5 testi) FISH zondes flakonam, 10 cikli 100 µl (10 testi) FISH zondes flakonam un 15 cikli 150 µl (15 testi) kontrastvielas flakonam. Pēc iespējas jāsamazina gaismas iedarbība un jāizvairās no tās, kad vien iespējams. Uzglabājiet komponentus nodrošinātājā gaismas necaurlaidīgajā konteinerā. Komponenti, kas izmantoti un uzglabāti apstākļos, kas nav norādīti marķējumā, var nedarboties, kā paredzēts, un tie var negatīvi ietekmēt analīzes rezultātus. Ir jādara viss iespējamais, lai ierobežotu gaismas un temperatūras svārstību ietekmi.

Aprīkojums un materiāli, kas ir nepieciešami, bet nav iekļauti komplektācijā

Ir jāizmanto kalibrēts aprīkojums:

1. Sildierīce (ar cietu sildvirsmu un precīzu temperatūras regulēšanu līdz pat 80 °C)
2. Kalibrētas mainīga tilpuma mikropipetes un uzgaļi 1–200 µl diapazonā.
3. Ūdens vanna ar precīzu temperatūras regulēšanu 37 °C un 72 °C
4. Mikrocentrifūgas mēģenes (0,5 ml)
5. Fluorescences mikroskops (sk. sadaļu "Uz fluorescences mikroskopu attiecināmie ieteikumi")
6. Fažu kontrasta mikroskops
7. Tīri plastmasas, keramikas vai karstumizturīga stikla Koplina trauki
8. Pincete
9. Kalibrēta pH mērierīce (vai pH indikatora strēmeles, ar kurām var veikt mērījumus pH 6,5–8,0 diapazonā)
10. Konteiners ar mitru vidi
11. Fluorescencei atbilstoša mikroskopa objektīva iegremdēšanas eļļa
12. Galda centrifūga
13. Mikroskopa priekšmetstikliņi
14. 24x24 mm segstikliņi
15. Taimeris
16. 37 °C inkubators
17. Gumijas līme
18. Virpuļmaisītājs
19. Mērcilindri
20. Magnētiskais maisītājs
21. Kalibrēts termometrs

Papildaprīkojums, kas nav ietverts komplektācijā

1. Citoģenētiskā žāvēšanas kamera

Nepieciešamie reaģenti, kas nav ietverti komplektācijā

1. 20x citrāta fizioloģiskais šķīdums (salīne-sodium citrate — SSC)
2. 100% etanols
3. Tween-20
4. 1M nātrija hidroksīds (NaOH)
5. 1M sālsskābe (HCl)
6. Attīrīts ūdens

Uz fluorescences mikroskopu attiecināmie ieteikumi

Lai nodrošinātu optimālu vizualizāciju, izmantojiet 100 W dzīvsudraba spuldzi vai ekvivalentu gaismas avotu un eļļā iegremdējamus 60/63x vai 100x objektīvus. Šajā zonā komplektā izmantotie fluorofori tiks ierosināti un izstaros tālāk norādītā garuma viļņos.

Fluorofors	Ierosme _{max} [nm]	Izstarošana _{max} [nm]
Zils	418	467
Zaļš	495	521
Sarkans	596	615

Pārlicinieties, vai mikroskops ir aprīkots ar priekš norādītajiem viļņa garumiem atbilstošiem ierosmes un izstarošanas filtriem.

Izmantojiet vienjoslas ūdens spektra filtru ūdens spektra optimālai vizualizācijai vai trīsjoslu sarkanā spektra/zaļā spektra/ūdens spektra filtru zaļo, sarkano un ūdens fluoroforu vienlaicīgai vizualizācijai.

Pirms lietošanas pārbaudiet fluorescences mikroskopu, lai pārlicinātos, vai tas darbojas pareizi. Izmantojiet iegremdēšanas eļļu, kas piemērota fluorescences mikroskopijai un nodrošina zemu automātiskās fluorescences līmeni. Izvairieties no DAPI luminiscences uzturēšanas šķīduma sajaukšanās ar mikroskopa iegremdēšanas eļļu, jo pretējā gadījumā radīsies signāla traucējumi. Rīkojieties atbilstoši ražotāja ieteikumiem attiecībā uz lampas un filtru kalpošanas ilgumu.

Paraugu sagatavošana

Šis komplekts ir paredzēts izmantošanai ar hematoloģiski iegūtām šūnu suspensijām, kas fiksētas Karnuā (3:1 metanols/etiķskābe) šķīdumā un ir sagatavotas atbilstoši laboratorijā vai iestādē spēkā esošajām vadlīnijām. Sagatavojiet gaisā nožāvētus paraugus uz mikroskopa priekšmetstikliņiem atbilstoši standarta citoģenētiskajām procedūrām. AGT *citoģenētikas laboratorijas rokasgrāmatā* ir ietverti ieteikumi par paraugu paņemšanu, kultivēšanu, ievākšanu un priekšmetstikliņu sagatavošanu.⁴

Šķīdumu sagatavošana

Etanola šķīdumi

Atšķaidiet 100% etanolu ar attīrītu ūdeni atbilstoši tālāk norādītajām proporcijām un rūpīgi samaisiet.

- 70% etanols — 7 daļas 100% etanola un 3 daļas attīrīta ūdens
 - 85% etanols — 8,5 daļas 100% etanola un 1,5 daļas attīrīta ūdens
- Glabājiet šķīdumus līdz pat 6 mēnešiem istabas temperatūrā hermētiski noslēdzamā konteinerā.

2xSSC šķīdums

Atšķaidiet 1 daļu 20xSSC šķīduma ar 9 daļām attīrīta ūdens un rūpīgi samaisiet. Pārbaudiet pH līmeni un nodrošiniet, lai tā pH būtu 7,0, pēc nepieciešamības izmantojot NaOH vai HCl. Uzglabājiet šķīdumu līdz pat 4 nedēļu ilgumā istabas temperatūrā hermētiski noslēdzamā konteinerā.

0,4xSSC šķīdums

Atšķaidiet 1 daļu 20xSSC šķīduma ar 49 daļām attīrīta ūdens un rūpīgi samaisiet. Pārbaudiet pH līmeni un nodrošiniet, lai tā pH būtu 7,0, pēc nepieciešamības izmantojot NaOH vai HCl. Uzglabājiet šķīdumu līdz pat 4 nedēļu ilgumā istabas temperatūrā hermētiski noslēdzamā konteinerā.

2xSSC, 0,05% Tween-20 šķīdums

Atšķaidiet 1 daļu 20xSSC šķīduma ar 9 daļām attīrīta ūdens. Pievienojiet 5 µl Tween-20 uz 10 ml un rūpīgi samaisiet. Pārbaudiet pH līmeni un nodrošiniet, lai tā pH būtu 7,0, pēc nepieciešamības izmantojot NaOH vai HCl. Uzglabājiet šķīdumu līdz pat 4 nedēļu ilgumā istabas temperatūrā hermētiski noslēdzamā konteinerā.

Fluorescentās in situ hibridizācijas (FISH) protokols

(Piezīme. Nodrošiniet, lai zonde un kontrasta krāsviela pēc iespējas mazāk tiktu pakļauta laboratorijas apgaismojuma iedarbībai.)

Priekšmetstikliņa sagatavošana

1. Novietojiet šūnu paraugu uz mikroskopa priekšmetstikliņa, kas izgatavots no stikla. Ļaujiet nožūt. (**Pēc izvēles, ja izmanto citoģenētisko žāvēšanas kameru:** Lai nodrošinātu optimālu šūnu parauga sagatavošanu, kamera jādarbina, iestatot aptuveni 25 °C temperatūru un 50% mitruma. Ja citoģenētiskā žāvēšanas kamera nav pieejama, kā alternatīvu var izmantot gāzu nosūcēju).
2. Iegremdējiet priekšmetstikliņu 2xSSC šķīdumā istabas temperatūrā uz 2 minūtēm, neveicot maisīšanu.
3. Veiciet dehidrēšanas etanolā sērijas (70%, 85% un 100%), katru 2 minūtes istabas temperatūrā.
4. Ļaujiet nožūt.

Iepriekšēja denaturēšana

5. Izņemiet zondi no saldētavas un ļaujiet tai sasilt līdz istabas temperatūrai. Pirms mēģeņu lietošanas brīdī tās centrifugējiet.
6. Izmantojot pipeti, pārlicinieties, vai zondes šķīdums ir viendabīgi samaisīts.
7. Paņemiet 10 µl zondes šķīduma katram testam un pārnesiet to uz mikrocentrifūgas mēģeni. Atlikušo zondes šķīdumu nekavējoties ievietojiet atpakaļ saldētavā.
8. Novietojiet zondi un parauga priekšmetstikliņu uz sildierīces un veiciet iepriekšēju sildīšanu 37 °C (+/- 1 °C) temperatūrā 5 minūtes.
9. Uzplīniet 10 µl zondes maisījuma uz šūnu parauga un uzmanīgi uzlieciet segstikliņu. Hermetizējiet ar gumijas līmi un ļaujiet līmei pilnībā nožūt.

Denaturēšana

10. Veiciet parauga un zondes vienlaicīgu denaturēšanu, sildot priekšmetstikliņu uz sildierīces 75 °C (+/- 1 °C) temperatūrā 2 minūtes.

Hibridizācija

11. Ievietojiet priekšmetstikliņu gaismu necaurlaidīgā konteinerā ar mitru vidi un atstājiet to 37 °C (+/- 1 °C) temperatūrā līdz nākamajai dienai.

Skalošana pēc hibridizācijas

12. Izņemiet DAPI no saldētavas un ļaujiet tam sasilt līdz istabas temperatūrai.
13. Noņemiet segstikliņu un rūpīgi notīriet visas līmes atliekas.
14. Iegremdējiet priekšmetstikliņu 0,4xSSC (pH 7,0) 72 °C (+/- 1 °C) temperatūrā uz 2 minūtēm netaisot.
15. Noteciniet šķīdumu no priekšmetstikliņa un iegremdējiet to 2xSSC, 0,05% Tween-20 šķīdumā istabas temperatūrā (pH 7,0) uz 30 sekundēm netaisot.

16. Noteciniet šķīdumu no priekšmetstikliņa un katram paraugam pievienojiet 10 µl fluorescences uzturēšanas līdzekli ar DAPI.
17. Uzlieciet segstikliņu, izvadiet burbuļus un ļaujiet krāsai tumsā attīstīties 10 minūtes.
18. Skatiet fluorescences mikroskopā (sk. **Uz fluorescences mikroskopu attiecināmie ieteikumi**).

Ieteikumi attiecībā uz procedūru

1. Priekšmetstikliņu karsēšana vai novecošanās var samazināt signāla fluorescenci.
2. Tādu reaģentu izmantošana, kas nav uzņēmuma Cytocell Ltd. nodrošinātie vai ieteiktie reaģenti, var nelabvēlīgi ietekmēt hibridizācijas apstākļus.
3. Šķīdumu, ūdens vannu un inkubatoru temperatūras mērīšanai jāizmanto kalibrēts termometrs, jo norādītās temperatūras ievērošana ir kritiski svarīga produkta optimālas veiktspējas nodrošināšanai.
4. Skalošanas šķīdumu koncentrācijas, pH vērtības un temperatūras vērtības ir svarīgas, jo pārāk zemas pielāides gadījumā iespējama nespecifiska sasaiste, savukārt pārāk augstas pielāides gadījumā iespējama signāla nepietiekamība.
5. Nepilnīga denaturēšana var izraisīt signāla nepietiekamību, savukārt pārmērīga denaturēšana arī var izraisīt nespecifisku sasaisti.
6. Pārmērīgas hibridizācijas dēļ iespējami papildu vai neparedzēti signāli.
7. Pirms testa izmantošanas diagnostikas nolūkiem lietotājiem ir jāveic protokola optimizācija atbilstoši saviem paraugiem.
8. Ja apstākļi nav pietiekami optimāli, iespējama nespecifiska sasaiste, kas var tikt nepareizi interpretēta kā zondes signāls.

Rezultātu interpretēšana

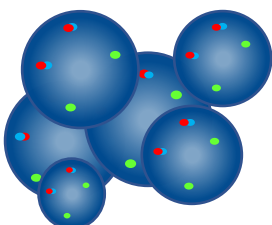
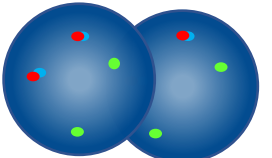
Sagatavotā priekšmetstikliņa ar paraugu kvalitātes novērtēšana

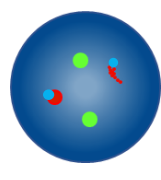
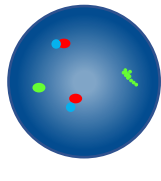
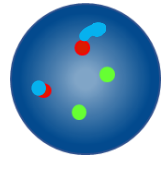
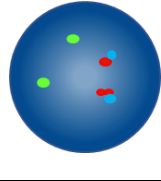
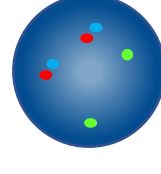
Paraugu nedrīkst analizēt tālāk norādītajos gadījumos.

- Signāli ir pārāk vāji analizēšanai atsevišķos filtros — lai veiktu analīzi, signāliem jābūt spilgtiem, labi izšķīrjamiem un viegli novērtējamiem.
- Ir daudz salīpušu/pārklājošos šūnu, kas traucē veikt analīzi.
- >50% šūnu nav hibridizētas.
- Starp šūnām atrodas pārāk daudz fluorescences daļiņu un/vai fluorescences dūmakas, kas rada signāla traucējumus, — optimālā priekšmetstikliņā ar paraugu fonam jābūt tumšam vai melnam un tīram.
- Šūnu kodolu robežas nav izšķīramas un nav veselas.

Uz analīzi attiecināmās vadlīnijas

- Katra parauga analīzi un interpretēšanu ir jāveic diviem laboratorijas speciālistiem. Visas neatbilstības ir jānovērš, novērtēšanu veicot trešajam laboratorijas speciālistam.
- Katram laboratorijas speciālistam jābūt attiecīgi kvalificētam atbilstoši spēkā esošajiem valsts līmeņa standartiem.
- Katram laboratorijas speciālistam neatkarīgi jāveic novērtēšana 100 kodoliem no katra parauga. Pirmajam laboratorijas speciālistam jāskatās analīze no priekšmetstikliņa kreisās puses, savukārt otram laboratorijas speciālistam — no priekšmetstikliņa labās puses.
- Katram laboratorijas speciālistam jādokumentē savi rezultāti atsevišķās lapās.
- Ir jāanalizē tikai veseli kodoli, nevis pārklājošies kodoli, sablīvējušies kodoli vai kodoli, kurus sedz citoplazmatiskās atliekas vai augsta līmeņa automātiskā fluorescences.
- Jāizvairās no zonām ar pārmērīgu citoplazmatisko atlieku apjomu vai nespecifisku hibridizāciju.
- Signāla intensitāte var būt mainīga, pat vienā kodolā. Šādos gadījumos izmantojiet atsevišķus filtrus un/vai pielāgojiet fokālo plakni.
- Ja apstākļi nav pietiekami optimāli, signāli var šķīst izkliedēti. Ja divi vienādas krāsas signāli savstarpēji saskaras vai attālums starp tiem nepārsniedz divus signāla platumus, vai arī abus signālus savieno tikko redzams pavediens, šie signāli ir uzskatāmi par vienu signālu.
- Ja pastāv šaubas, vai šūna ir analizējama, neveiciet tās analīzi.

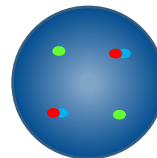
Uz analīzi attiecināmās vadlīnijas	
	Neskaitīt — kodoli atrodas pārāk tuvu viens otram, lai varētu noteikt to robežas
	Neskaitīt pārklājošos kodolus — nav redzamas visas abu kodolu zonas

	Skaitīt kā divus sarkanus/zilus fūzijas signālus un divus zaļus signālus — viens no abiem sarkanajiem signāliem ir difūzs
	Skaitīt kā divus sarkanus/zilus fūzijas signālus un divus zaļus signālus — viens no abiem zaļajiem signāliem ir difūzs
	Skaitīt kā divus sarkanus/zilus signālus un divus zaļus signālus — viens no abiem zilajiem signāliem ir difūzs
	Skaitīt kā divus sarkanus/zilus signālus un divus zaļus signālus — atstarpe vienā sarkanajā signālā ir mazāka nekā divi zondes platumi
	Skaitīt kā divus sarkanus/zilus signālus un divus zaļus signālus — atstarpe starp sarkano un zilo signālu ir mazāka nekā divi zondes platumi

Paredzamie rezultāti

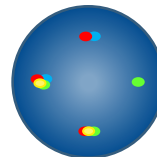
Paredzamais normālu signālu modelis

Trīskrāsu zonde Dual Fusion Probe

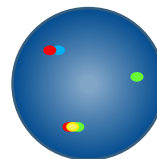


Normālā šūnā ir paredzami divi sarkani/zili fūzijas signāli un divi zaļi signāli (2SZi2Za).

Paredzamie anormālo signālu modeļi



Šūnā ar t(9;22)(q34.1;q11.2) pārkārtojumu paredzamais signālu modelis ir viens sarkans/zils fūzijas, viens zaļš signāls, viens sarkans/zaļš fūzijas, viens sarkans/zaļš/zils fūzijas (1SZi1Za1SZa1SZaZi) signāls.



Šūnā ar t(9;22)(q34.1;q11.2) pārkārtojumu ar proksimālā 9q un distālā 22q delēciju paredzamais signālu modelis ir viens sarkans/zils fūzijas signāls, viens zaļš signāls un viens sarkans/zaļš fūzijas signāls (1SZi1Za1SZa).

Citi signālu modeļi ir iespējami aneiploīdos/nelīdzsvarotos paraugos.

Zināmie būtiskie traucējumi/traucējošās vielas

Nav zināmu būtisku traucējumu/traucējošu vielu.

Zināmā krusteniskā reaktivitāte

Zajā BCR distālā zonde var uzrādīt 2 signālus 7. hromosomā, kas atrodas 7q11.2.

Ziņošana par nopietniem negadījumiem

Pacientam/lietotājam/trešajai personai Eiropas Savienībā un valstīs ar identisku tiesisko regulējumu (Regula (ES) 2017/746 par *In vitro* diagnostikas medicīniskām ierīcēm); ja šīs ierīces lietošanas laikā vai tās lietošanas rezultātā ir noticis nopietns negadījums, lūdzu, ziņojiet par to ražotājam un valsts atbildīgajai iestādei.

Attiecībā uz nopietniem negadījumiem citās valstīs, lūdzu, ziņojiet par to ražotājam un, ja paredzēts, savas valsts atbildīgajai iestādei.

Ražotāja uzraudzības kontaktinformācija: vigilance@ogt.com

ES valstu kompetentajām iestādēm kontaktpersonu medicīnas ierīču kontroles jautājumos saraksts ir atrodams šajā vietnē:

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

Specifiskās veikspējas raksturlielumi

Analītiskais specifiskums

Analītiskais specifiskums tiek definēts kā to signālu procentuālā vērtība, kas hibridizējas uz pareizo lokusu un nekādu citu vietu. Katrā no 100 metafāzes šūnām no pieciem (5) paraugiem tika analizēti trīs (3) hromosomu lokusi, dodot 600 datu punktus. Katras hibridizētās zondes atrašanās vieta ir kartēta, un ir ierakstīts metafāzes hromosomu FISH signālu skaits, kas hibridizējās uz pareizo lokusu.

Katras komplekta zondes analītiskais specifiskums tika aprēķināts kā metafāzes hromosomu FISH signālu skaits, kas hibridizējās uz pareizo lokusu, dalīts ar kopējo metafāzes hromosomu FISH signālu kopējo skaitu, šis rezultāts tika sareizināts ar 100, izteikts kā procentuālā vērtība un dots ar 95% ticamības intervālu.

1. tabula. Zondes BCR/ABL (ABL1) Plus Translocation, Dual Fusion Probe analītiskais specifiskums

Mērķis	Hibridizēto metafāzes hromosomu skaits	Pareizi hibridizēto lokusu skaits	Analītiskais specifiskums	95% ticamības intervāls
9q34.1	200	200	100%	98,12%–100%
22q11.2	200	200	100%	98,12%–100%
9q34.1	200	200	100%	98,12%–100%

Analītiskais jutīgums

Analītiskais jutīgums tiek izteikts kā novērtējama interfāzes šūnu ar paredzamu normālo signālu modeli procentuālā vērtība. Katrai no 25 fiksētām kaula smadzeņu šūnu suspensijām, kas tika uzskatītas par negatīvām attiecībā uz BCR::ABL1 translokāciju vai ASS1 delēciju, tika analizētas vismaz 100 starpfāzes šūnas, rezultātā sniedzot vismaz 2500 kodolus katram parauga tipam. Jutīguma dati tika analizēti, pamatojoties uz šūnu procentuālo vērtību, kas parāda parastu paredzamo signālu modeli un tiek izteikti kā procentuālā vērtība ar 95% ticamības intervālu.

2. tabula. Zondes BCR/ABL (ABL1) Plus Translocation, Dual Fusion Probe analītiskais jutīgums

Parauga tips	Jutīguma kritēriji	Jutīguma rezultāts
Kaula smadzenes	>95%	100,0% (± N/A)

Normalitātes robežvērtību raksturojums

Normalitātes robežvērtība tiek definēta kā to šūnu procentuālā vērtība, kas uzrāda aplami pozitīvu signālu modeli, kurā indivīds tiktu uzskatīts par normalitāti un neatbilstošs klīniskajai diagnozei. Katrai no 25 fiksētām kaula smadzeņu šūnu paraugu suspensijām, kas tika uzskatītas par negatīvām attiecībā uz BCR::ABL1 translokāciju, tika analizētas vismaz 100 starpfāzes šūnas, rezultātā sniedzot vismaz 2500 kodolus katram parauga tipam.

Robežvērtība tika noteikta, programmā MS Excel izmantojot β inversijas (BETAINV) funkciju. Tā tika aprēķināta kā starpfāžu šūnu procentuālā vērtība, kas uzrāda aplami pozitīvu signālu modeli, izmantojot binomiālās izplatības vienpusējās 95% pārliecības intervāla augšējo robežu normalitātes pacienta paraugā.

3. tabula. Zondes BCR/ABL (ABL1) Plus Translocation, Dual Fusion Probe normalitātes robežvērtību raksturojums

Parauga tips	Signālu modelis	Robežvērtības rezultāts
Kaula smadzenes	1SZ1Za1SZa	2,95%
	1SZ1Za1SZa1SZaZi	2,95%

Laboratorijām jāveic robežvērtību verifikācija, izmantojot savus datus.^{5,6}

Precizitāte

Šī izstrādājuma precizitāte ir izmērīta dienas precizitātes (no parauga uz paraugu), starpdienas precizitātes (no dienas uz dienu) un vienas vietas starppartiju precizitātes (no partijas uz partiju) izteiksmē.

Tika izmantoti trīs paraugi, lai noteiktu šī produkta precizitāti: atlikušais 3:1 metanola/etiķskābes fiksētais materiāls no deidentificētiem kaulu smadzeņu paraugiem, kas iegūti no CytoCell fiksēto šūnu paraugu bankas. Paraugu izlases

lielums bija trīs (3), kas aptvēra paredzēto normālu un nedaudz pozitīvu rezultāta diapazonu.

Lai noteiktu starpdienas un dienas precizitāti, paraugi tika izvērtēti desmit (10) nesešcīgu datumu laikā, un, lai noteiktu precizitāti no partijas uz partiju, trīs (3) produkta partijas tika novērtētas ar vienu un tā paša parauga trīs (3) atkārtojumiem. Rezultāti tika pasniegti kā vispārēja konverģence ar prognozētu negatīvo klasi (negatīviem paraugiem).

4. tabula. Zondes BCR/ABL (ABL1) Plus Translocation, Dual Fusion Probe reproducējamība un precizitāte

Mainīgais	Parauga tips	Konverģence
Dienas (paraugu līmeni) un starpdienas (dienas līmeni) reproducējamība	Kaula smadzenes, negatīvs	96,7%
	Kaula smadzenes, nedaudz pozitīvs 1SZ1Za1SZa	96,7%
	Kaula smadzenes, nedaudz pozitīvs 1SZ1Za1SZa1SZaZi	83,3%
Starpdiena reproducējamība	Kaula smadzenes, negatīvs	100,0%
	Kaula smadzenes, nedaudz pozitīvs 1SZ1Za1SZa	100,0%
	Kaula smadzenes, nedaudz pozitīvs 1SZ1Za1SZa1SZaZi	77,8%

Klīniskā veikspēja

Lai nodrošinātu to, ka produkts konstatē paredzētos pārkārtojumus, klīniskā veikspēja tika noteikta divos pētījumos produktam paredzētās populācijas reprezentējošiem paraugiem. Hematoloģiski iegūtas šūnu suspensijas, kas fiksētas Karnuā šķīdumā (3:1 metanols/etiķskābe), no pacientiem, kuriem ir konstatēta hroniska mieloleikoze (HML), akūta mieloīdā leikēmija (AML), akūta limfoblastiskā leikēmija (ALL) vai arī pastāv aizdomas par tās esamību, un ir sagatavotas atbilstoši laboratorijā vai iestādē spēkā esošajām vadlīnijām. Pētījumu kopējais paraugu izlases lielums bija 125 paraugi, starp kuriem ir 99 BCR::ABL1 translokācijas negatīvi un 26 BCR::ABL1 translokācijas pozitīvi paraugi. Rezultāti tika salīdzināti ar zināmo parauga statusu. Zonde pareizi noteica paraugu statusu visās instancēs.

Šo testu rezultāti tika analizēti, lai nodrošinātu klīnisku jutīgumu, klīnisku specifiskumu un aplami pozitīvo rezultātu rādītāja (false positive rate — FPR) vērtības pozitīviem signāliem, izmantojot viendimensijas pieeju.

5. tabula. Zondes BCR/ABL (ABL1) Plus Translocation, Dual Fusion Probe klīniskā veikspēja

Mainīgais	Rezultāts
Klīniskais jutīgums (pareizi pozitīvo rezultātu rādītājs (true positive rate — TPR))	98,97%
Klīniskais specifiskums (pareizi negatīvo rezultātu rādītājs (true negative rate — TNR))	99,73%
Aplami pozitīvo rezultātu rādītājs (false positive rate — FPR) = 1 – specifiskums	0,27%

Drošuma un veikspējas kopsavilkums (Summary of Safety and Performance — SSP)

SSP jābūt publiski pieejamam, izmantojot Eiropas medicīnisko ierīču datubāzi (Eudamed), kur tas ir saistīts ar pamata UDI-DI.

Eudamed URL: <https://ec.europa.eu/tools/eudamed>

Pamata UDI-DI: 50558449LPH038JQ

Ja Eudamed nedarbojas pilnībā, SSP ir publiski pieejams pēc pieprasījuma pa e-pastu SSP@ogt.com.

Papildinformācija

Lai saņemtu papildinformāciju par produktu, sazinieties ar CytoCell tehniskā atbalsta nodaļu.

Tālr.: +44 (0)1223 294048















E-pasta adrese: techsupport@cytoCELL.com

Timekļa vietne: www.ogt.com

Atsauces

- 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.

Simbolu glosārijs

EN ISO 15223-1:2021 — “Medicīniskās ierīces — simboli, kas jāizmanto kopā ar ražotāja nodrošināto informāciju — 1. daļa. Vispārīgas prasības” (© International Organization for Standardization)		
Simbols	Nosaukums	Atsauces numurs(-i)
	Iv: Ražotājs	5.1.1
	Iv: Pilnvarotais pārstāvis Eiropas Kopienā/Eiropas Savienībā	5.1.2
	Iv: Derīguma termiņš	5.1.4
	Iv: Partijas kods	5.1.5
	Iv: Kataloga numurs	5.1.6
	Iv: Sargājiet no tiešiem saules stariem	5.3.2
	Iv: Temperatūras ierobežojums	5.3.7
	Iv: Skatīt lietošanas instrukciju	5.4.3
	Iv: Skatīt elektronisko lietošanas instrukciju oqt.com/IFU	5.4.3
	Iv: Uzmanību!	5.4.4
	Iv: <i>In vitro</i> diagnostikas medicīniskā ierīce	5.5.1
	Iv: Saturs ir pietiekams <n> testiem	5.5.5
	Iv: Unikālais ierīces identifikators	5.7.10
EDMA simboli IVD reaģentiem un komponentiem, 2009. gada oktobra redakcija		
Simbols	Nosaukums	Atsauces numurs(-i)
	Iv: Sastāvs (vai saturs)	N/p

Patenti un preču zīmes

CytoCell ir reģistrēta CytoCell Limited preču zīme.



CytoCell Limited
Oxford Gene Technology
418 Cambridge Science Park
Milton Road
CAMBRIDGE
CB4 0PZ
APVIENOTĀ KARALISTE

Tālr.: +44 (0)1223 294048
Fakss: +44 (0)1223 294986
E-pasta adrese: probes@cytoCell.com
Tīmekļa vietne: www.oqt.com



Sysmex Europe SE
Bornbarch 1
22848 Norderstedt
VĀCIJA

Tālr.: +49 40 527260
Tīmekļa vietne: www.sysmex-europe.com

Lietošanas instrukcijas variantu vēsture

V001 2023-06-13: Jauna lietošanas instrukcija atbilstoši Regulai (ES) 2017/746.