



A Sysmex Group Company



Lietošanas instrukcija

ATS.: CE-LPH 026-S / CE-LPH 026

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



TIKAI PROFESIONĀLAM LIETOJUMAM



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

Paredzētais lietošanas mērķis

Zonde CytoCell® AML1/ETO (RUNX1/RUNX1T1) Translocation, Dual Fusion Probe ir kvalitatīvs, neautomatizēts luminiscentās *in situ* hibridizācijas (fluorescence in situ hybridisation — FISH) tests, kas paredzēts hromosomālo pārkārtojumu noteikšanai starp 21. hromosomas reģionu 21q22.1 un 8. hromosomas reģionu 8q21.3 Karnuā šķīdumā (3:1 metanols/etiķskābe) fiksētās hematoloģiski iegūtās šūnu suspensijās no pacientiem, kuriem ir konstatēta akūta mieloleikoze (AML) vai pastāv aizdomas par tās esamību.

Lietošanas indikācijas

Šis ierīce ir paredzēta kā citu klīnisko un histopatoloģisko testu papildinājums atzītās diagnostikas un klīniskās aprūpes metodēs, kad informācija par AML1::ETO (RUNX1::RUNX1T1) translokācijas statusu ir svarīga klīniskajai pārvaldībai.

Ierobežojumi

Šī ierīce ir paredzēta pārkārtojumu ar pārtraukumpunktiem noteikšanai reģionā, ko nosedz sarkanie un zaļie kloni šajā zonu komplektā, kurā ietilpst AML1 un ETO (RUNX1 un RUNX1T1) reģioni. Izmantojot šo ierīci, var netikt noteikti pārtraukumpunkti ārpus šī reģiona vai pārkārtojumu varianti, kas pilnībā ietilpst šajā reģionā.

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 tipiem, slimību tipiem 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 veikspēja un iegūti kļūdaini pozitīvi vai kļūdaini negatīvi rezultāti.

Testa principi

Luminiscentā *in situ* hibridizācija (fluorescence in situ hybridisation — FISH) ir metode, kas ļauj noteikt DNS sekvences metafāzu hromosomās vai interfāzes kodolos fiksētiem citoģenētiskiem paraugiem. Šajā metodē tiek izmantotas DNS zondes, kas hibridizējas ar veselām hromosomām vai atsevišķām unikālām sekvencēm un kalpo kā efektīvs G joslu citoģenētiskās 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 līdziģi denaturētu, luminiscējošu marķētu DNS zondi, kurai ir papildu sekvenca. Pēc hibridizācijas nesaisītā un nespecifiski saistītā DNS zonde tiek aizvākta un DNS tiek kontrastēta vizualizācijai. Pēc tam, izmantojot luminiscences mikroskopiju, hibridizēto zondi var vizualizēt mērķa materiālu.

Informācija par zondi

RUNX1 (RUNX saimes 1. transkripcijas faktors) gēna, kas atrodas 21q22.1, un RUNX1T1 (RUNX1 transkriptāzes korepresora partneris 1) gēna, kas atrodas Ensembl atrašanās vietā 8q21.3. fūzija notiek t(8;21)(q21.3;q22.1) translokācijā un visbiežāk ir konstatējama pacientiem, kuri cieš no akūtas mieloleikozes (AML) FAB (Francijas/ASV/Lielbritānijas klasifikācijas) tipa M2.

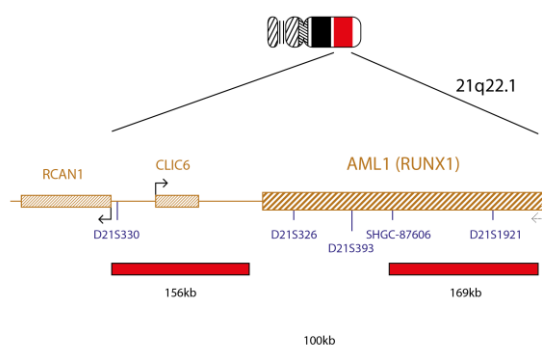
AML ar RUNX1::RUNX1T1 fūziju, kas rodas t(8;21)(q21.3;q22.1) translokācijas rezultātā, ir atzīta nozoloģiskā vienība atbilstoši Pasaules Veselības organizācijas (PVO) mieloido neoplazmu un akūtas leikēmijas klasifikācijai¹. Šī translokācija ir konstatējama 10–22% pacientu, kuri cieš no FAB M2 tipa AML un vispārīgi 5–10% AML gadījumos; šī translokācija visbiežāk ir konstatējama bērniem un jauniešiem² un ir labvēlīgs prognozes indikators^{3,4,5}. Pārtraukumpunkts t(8;21) lielākoties rodas intronā starp 5. un 6. eksonu, tieši pirms transaktivācijas domēna, un izveidotajā fūzijas proteīnā ietilpst RUNX1 DNS saistošais domēns fūzijā ar transkripcijas faktoru RUNX1T1².

Papildus reciproklāļajai t(8;21) translokācijai, kas izveido RUNX1::RUNX1T1 fūziju, ir konstatēti arī translokāciju varianti. Šie pārkārtojumu varianti var būt kriptiski un grūti pamanāmi G saistīšanas dēļ; tomēr FISH var norādīt uz šādu pārkārtojumu esamību².

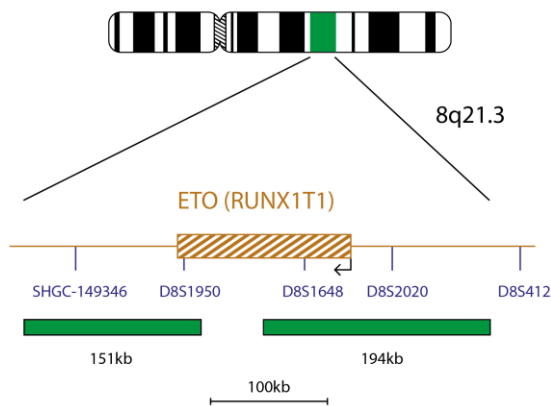
Zondes specifiskācija

AML1, 21q22.1, sarkana
ETO, 8q21.3, zaļa

CMP-H004 v006.00



CMP-H005 v005.00



AML1 komponentā ietilpst 156 kb zonde, kas marķēta sarkanā krāsā, atrodas centromēriski attiecībā pret AML1 (RUNX1) gēnu un plešas līdz CLIC6 gēnam, un 169 kb zonde, kas nosedz daļu AML1 (RUNX1) gēna, tostarp marķierus SHGC-87606 un D21S1921. ETO (RUNX1T1) komponentā, kas marķēta zaļā krāsā, ietilpst 151 kb zonde, kas nosedz gēna centromērisko daļu un piegulošo reģionu, un 194 kb zonde, kas nosedz gēna telomērisko daļu un piegulošo reģionu.

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 dekskātrāna 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. Rīkojieties ar to piesardzīgi; valkājiet cimdus un laboratorijas virsvalku.

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

1. lpp. no 5

- Rīkojieties ar DAPI piesardzīgi; valkājiet cimdus un laboratorijas virsvalku.
- Nelietot, ja flakons(-i) ir bojāts(-i) vai flakona saturs jebkādā veidā ir bojāts.
- Izplūdi 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 jebkādus 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.
- Operatoriem jāspēj atšķirt sarkano, zilo un zaļo krāsu.
- Neievērojot norādīto protokolu un norādījumus par reaģentiem, var tikt ietekmēta veiktspēja un iegūti kļūdaini pozitīvi/negatīvi rezultāti.
- Zondi nedrīkst atšķaidīt vai veidot maisījumus ar citām zondēm.
- Ja protokola priekšdenaturēšanas fāzes laikā netiek izmantoti 10 µl no zondes, var tikt ietekmēta veiktspēja un iegūti kļūdaini pozitīvi/negatīvi rezultāti.
- Pirms lietošanas visi produkti ir jāapstiprina.
- Iekšējās kontroles jāveic, testēšanas paraugos izmantojot neietekmētas šūnu populācijas.

Temperatūras definīcijas

- 20 °C/sasaldēts/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 apiešanās

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 parastas 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 necaurīdīgā konteinerā. Komponenti, kas izmantoti uzglabāti apstākļos, kas nav norādīti marķējumā, var nedarboties, kā paredzēts, un tie var negatīvi ietekmēt analīzes rezultātus. Ir jāveic viss iespējamais, lai ierobežotu gaismas un temperatūras svārstību ietekmi.

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

Ir jāizmanto kalibrēts aprīkojums.

- Sildierīce (ar cietu sildvirsmu un precīzu temperatūras regulēšanu līdz pat 80 °C)
- Kalibrētas dažāda tilpuma mikropipetes un uzgaļi 1–200 µl diapazonā.
- Ūdens vanna ar precīzu temperatūras regulēšanu 37 °C un 72 °C
- Mikrocentrifūgas mēģenes (0,5 ml)
- Luminiscences mikroskops (sk. sadaļu Uz luminiscences mikroskopu attiecināmie ieteikumi)
- Fāžu kontrasta mikroskops
- Tīri plastmasas, keramikas vai karstumizturīga stikla Koplina trauki
- Pincete
- Kalibrēta pH mērierīce (vai pH indikatora strēmeles, ar kurām var veikt mērījumus pH 6,5–8,0 diapazonā)
- Konteiners ar mitru vidi
- Luminiscencei atbilstoša mikroskopa objektīva iegremdēšanas eļļa
- Galda centrifūga
- Mikroskopa priekšmetstikliņi
- 24x24 mm segstikliņi
- Taimeris
- 37 °C inkubators
- Gumijas līme
- Virpuļmaisītājs
- Mērcilindri
- Magnētiskais maisītājs
- Kalibrēts termometrs

Papildaprīkojums, kas nav ietverts komplektācijā

- Citoģenētiskā žāvēšanas kamera

Nepieciešamie reaģenti, kas nav ietverti komplektācijā

- 20x citrāta fizioloģiskais šķīdums (saline-sodium citrate — SSC)
- 100% etanols
- Tween-20
- 1M nātrija hidroksīds (NaOH)
- 1M sāļsskābe (HCl)
- Attīrīts ūdens

Uz luminiscences 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 zonžu komplektā izmantotie fluorofori tiks ierosināti un izstaros tālāk norādītā garuma viļņos.

Fluorofors	Ierosme ^{max} [nm]	Izstarošana ^{max} [nm]
Zaļš	495	521
Sarkans	596	615

Nodrošiniet, lai mikroskops būtu aprīkots ar iepriekš norādītajiem viļņa garumiem atbilstošiem ierosmes un izstarošanas filtriem. Lai nodrošinātu optimālu DAPI un sarkano fluoroforu vienlaicīgu vizualizāciju, izmantojiet trīsjoslu ZAP/zaļā spektra/sarkanā spektra filtru vai divjoslu zaļā spektra/sarkanā spektra filtru.

Pirms lietošanas pārbaudiet luminiscences mikroskopu, lai pārlicinātos, vai tas darbojas pareizi. Izmantojiet iegremdēšanas eļļu, kas piemērota luminiscences mikroskopijai un nodrošina zemu autoluminiscences 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 šķīdumā (3:1 metanols/etiķskābe), no pacientiem, kuriem ir konstatēta akūta mieloleikoze (AML) vai arī pastāv aizdomas par tās esamību, un ir sagatavotas atbilstoši laboratorijā vai iestādē spēkā esošajam vadlīnijam. Sagatavojiet gaisā nožāvētus paraugus uz mikroskopa priekšmetstikliņiem atbilstoši standarta citoģenētiskajam procedūram. AGT *citoģenētiskās laboratorijas rokasgrāmātā* ir ietverti ieteikumi par paraugu ņemšanu, kultūrēšanu, ievākšanu un priekšmetstikliņu sagatavošanu⁶.

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.

Luminiscentās in situ hibridizācijas protokols (FISH)

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

Priekšmetstikliņa sagatavošana

- 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).
- Iegremdējiet priekšmetstikliņu 2xSSC šķīdumā istabas temperatūrā uz 2 minūtēm, neveicot maisīšanu.
- Veiciet dehidrēšanas etanolā sērijās (70%, 85% un 100%), katru 2 minūtes istabas temperatūrā.
- Ļaujiet nožūt.

Priekšdenaturēšana

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

Denaturēšana

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

Hibridizācija

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

Skalošana pēc hibridizācijas

- Izņemiet DAPI no saldētavas un ļaujiet tam sasilt līdz istabas temperatūrai.
- Ņemiet segstikliņu un rūpīgi notīriet visas līmes atliekas.
- Iegremdējiet priekšmetstikliņu 0,4xSSC (pH 7,0) 72 °C (+/- 1 °C) temperatūrā uz 2 minūtēm nemaisot.
- Noteciniet šķidrumu no priekšmetstikliņa un iegremdējiet to 2xSSC, 0,05% Tween-20 šķīdumā istabas temperatūrā (pH 7,0) uz 30 sekundēm nemaisot.
- Noteciniet šķidrumu no priekšmetstikliņa un katram paraugam pievienojiet 10 µl DAPI luminiscences uzturēšanas līdzekli.
- Uzlieciet segstikliņu, likvidējiet burbuļus un ļaujiet krāsai tumsā attīstīties 10 minūtes.
- Skatiet luminiscences mikroskopā (sk. **Uz luminiscences mikroskopu attiecināmie ieteikumi**).

Ieteikumi attiecībā uz procedūru

- Priekšmetstikliņu karsēšana vai novecošana var samazināt signāla luminiscenci.
- Tādu reaģentu izmantošana, kas nav uzņēmuma CytoceLL Ltd. nodrošinātie vai ieteiktie reaģenti, var nelabvēlīgi ietekmēt hibridizācijas apstākļus.
- Šķīdumu, ūdens vannu un inkubatoru temperatūras mērīšanai jāizmanto kalibrēts termometrs, jo norādītās temperatūras ievērošana ir kritiski svarīga produkta optimālās veiktspējas nodrošināšanai.
- Skalošanas šķīdumu koncentrācijas, pH vērtības un temperatūras vērtības ir svarīgas, jo pārāk lielas pielāides gadījumā iespējama nespecifiska sasaiste, savukārt pārāk mazas pielāides gadījumā iespējama signāla nepietiekamība.
- Nepilnīga denaturēšana var izraisīt signāla nepietiekamību, savukārt pārmērīga denaturēšana arī var izraisīt nespecifisku sasaisti.
- Pārmērīga hibridizācijas dēļ iespējami papildu vai neparedzēti signāli.
- Pirms testa izmantošanas diagnostikas nolūkiem lietotājiem ir jāveic protokola optimizācija atbilstoši saviem paraugiem.
- Ja apstākļi nav pietiekami optimāli, iespējama nespecifiska sasaiste, kas var tikt nepareizi interpretēta kā zondes signāls.

Rezultātu interpretēšana

Sagatavotā priekšmetstikliņa ar paraugu kvalitātes novērtēšana

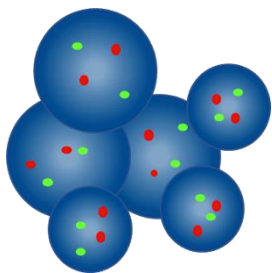
Paraugu nedrīkst analizēt tālāk norādītajos gadījumos.

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

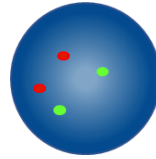


Neskaitīt — kodoli atrodas pārāk tuvu viens otram, lai varētu noteikt to robežas

	Neskaitīt pārklājošos kodolus — nav redzamas visas abu kodolu zonas
	Skaitīt kā divus sarkanus signālus un divus zaļus signālus — viens no abiem sarkanajiem signāliem ir difūzs
	Skaitīt kā divus sarkanus signālus un divus zaļus signālus — atstarpe vienā sarkanajā signālā ir mazāka nekā divi signāla platumi

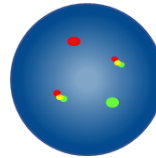
Paredzamie rezultāti

Paredzamais normālu signālu modelis



Normālā šūnā ir paredzami divi sarkani un divi zaļi signāli (2S2Z).

Paredzamais anormālo signālu modelis



Šūnā ar t(8;21)(q21.3;q22.12) translokāciju paredzamais signālu modelis ir viens sarkans, viens zaļš un divas fūzijas (1S1Z2F).

Citi signālu modeļi ir iespējami aneiploīdos/nelfūzsvartos paraugos.

Zināmie būtiskie traucējumi/traucējošas vielas

Nav zināmu būtisku traucējumu/traucējošu vielu.

Zināmā krusteniskā reakcija

Nav zināmas krusteniskās reakcijas.

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, lūdz, ziņojiet par to ražotājam un valsts atbildīgajai iestādei. Attiecībā uz nopietniem negadījumiem citās valstīs, lūdz, 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 veiktspējas raksturlielumi

Anālītiskais specifiskums

Anālītiskais specifiskums tiek izteikts kā to signālu procentuālā vērtība, kas hibridizējas ar pareizo lokusu un nekādu citu vietu. Anālītiskais specifiskums tika noteikts, veicot 400 mērķa lokusu analīzi. Katrā no 20 metafāzes šūnām no 5 paraugiem tika analizēti divi hromosomu lokusi, dodot 400 datu punktus. Anālītiskais specifiskums tika noteikts, luminiscētās in situ hibridizācijas (FISH) signālu, kas hibridizējas ar pareizo lokusu, skaitu izdalot ar hibridizēto luminiscētās in situ hibridizācijas signālu kopskaitu.

Katras komplekta zondes anālītiskais specifiskums tika aprēķināts kā metafāzes hromosomu FISH signālu skaits, kas hibridizējas 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 AML1/ETO (RUNX1/RUNX1T1) Translocation, Dual Fusion Probe analītiskais specifiskums

Zonde	Mērķis	Hibridizēto metafāzes hromosomu skaits	Pareizi hibridizēto lokusu skaits	Analītiskais specifiskums (%)	95% ticamības intervāls (%)
AML1, sarkana	21q22.1	200	200	100	98,12–100
ETO, zaļa	8q21.3	200	200	100	98,12–100

Analītiskais jutīgums

Analītiskais jutīgums tiek izteikts kā novērtējamo interfāzes šūnu ar paredzamu normālo signālu modeli procentuālā vērtība. Katrai no 25 Karnuā šķīdumā fiksētām kariotipiski normālu kaula smadzeņu suspensijām tika analizētas vismaz 200 starpāzes šūnas, rezultātā sniedzot vismaz 5000 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 AML1/ETO (RUNX1/RUNX1T1) Translocation, Dual Fusion Probe analītiskais jutīgums

Šūnu ar paredzamiem signālu modeļiem skaits	Kopējais šūnu ar novērtējamiem signāliem skaits	Analītiskais jutīgums (%)	95% ticamības intervāls (%)
4965	5000	99,3	99,02, 99,58

Normalitātes robežvērtību raksturojums

Uz luminiscētās in situ hibridizācijas (FISH) zondēm attiecināmā normalitātes robežvērtība ir novērtējamo interfāzes šūnu ar specifisku anormālo signālu modeli, ar kādu paraugs ir uzskatāms par normālu attiecībā uz šādu signālu modeli, maksimālā procentuālā vērtība.

Normalitātes robežvērtība tika noteikta, izmantojot paraugus, kuri ir negatīvi attiecībā uz pārkārtojumu, kura noteikšanai ir paredzēta šī zonde, un beta inversijas funkciju. Katram paraugam tika reģistrēti 100 interfāzes kodolu signālu modeļi, kuru reģistrēšanu veica divi neatkarīgi laboratorijas speciālisti, kopumā reģistrējot 200 signālu modeļus katram paraugam.

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

3. tabula Zondes AML1/ETO (RUNX1/RUNX1T1) Translocation, Dual Fusion Probe normalitātes robežvērtību raksturojums

Anomālu signālu modelis	Robežvērtības ģenerēšanai analizēto paraugu skaits	Novērtēto kodolu skaits katrā paraugā	Maksimālais kļūdaini pozitīvo signālu modeļu skaits	Normalitātes robežvērtība (%)
1S1Z2F	1290	200	1	2,3

Laboratorijām jāveic robežvērtību verifikācija, izmantojot savus datus.^{7,8}

Reproducējamība

Reproducējamības pētījumi tika veikti, lai noteiktu:

- 3 laboratoriju dienas reproducējamību (paraugu līmeņa)
- 3 laboratoriju starpdienu reproducējamību (dienas līmeņa)
- 3 laboratoriju starplaboratoriju reproducējamību (laboratorijas līmeņa)
- Laboratorijas starppartiju reproducējamību (partijas līmeņa)

Reproducējamība tika noteikta trīs atsevišķās laboratorijās, kurās tika testēti seši kodēti paraugi (divi negatīvi attiecībā uz pārkārtojumu, divi nedaudz pozitīvi paraugi, kas 1–3 reizes pārsniedza robežvērtību, un divi augsta līmeņa pozitīvi paraugi, kuros vairāk nekā 45% šūnu bija pozitīvas attiecībā uz pārkārtojumu). Analīze tika veikta, izmantojot divus katra parauga replikātus piecu nesečīgu dienu laikā.

Visās trīs norises vietās tika veikta testēšana dienas, starpdienu un starplaboratoriju režīmā, izmantojot vienu zonžu partiju, kā arī vienā no norises vietām tika testēta starppartiju reproducējamība, izmantojot trīs atšķirīgas zonžu partijas.

Reproducējamība tika aprēķināta, izmantojot katra testa ietvaros pēlīto mainīgo lielumu konverģenci.

4. tabula Zondes AML1/ETO (RUNX1/RUNX1T1) Translocation, Dual Fusion Probe reproducējamība Pētījums	Kritēriji	Rezultāts
Dienas/starpdienu/starplaboratoriju	90% konverģences negatīvā klase	100%
	95% konverģences izteikti pozitīvā klase	100%
Starppartiju	90% konverģences negatīvā klase	100%
	95% konverģences izteikti pozitīvā klase	100%

Klīniskā veikspēja

Lai nodrošinātu, ka zonde AML1/ETO (RUNX1/RUNX1T1) Translocation Dual Fusion Probe nosaka paredzēto pārkārtošanos, klīniskā veikspēja tika noteikta piecos pētījumos ar produktam paredzētiem, reprezentatīviem paraugiem, kas ņemti no paredzētās populācijas: 3:1 metanolā/etiķskābē fiksēts materiāls. Pētījumu kopējais paraugu apjoms bija sešsimt trīsdesmit četri (634), no kuriem trīsdesmit pieci (35) bija pozitīvi un piecsimt deviņdesmit deviņi (599) negatīvi paraugi visās laboratorijās kopā. Tika konstatēts, ka rezultātu atbilstība/neatbilstība atbilst šā pētījuma akceptēšanas kritērijiem.

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

5. tabula Zondes AML1/ETO (RUNX1/RUNX1T1) Translocation, Dual Fusion Probe klīniskā veikspēja

Mainīgais	Rezultāts
Klīniskais jutīgums (pareizi pozitīvo rezultātu rādītājs (true positive rate — TPR))*	99,74%
Klīniskais specifiskums (pareizi negatīvo rezultātu rādītājs (true negative rate — TNR))*	99,90%
Kļūdaini pozitīvo rezultātu rādītājs (false positive rate — FPR) = 1 – specifiskums*	0,10%

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: 50558449LPH026JH

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-pasts: techsupport@cytoCELL.com













Timeklī: www.ogt.com

Atsauces

1. Swerdlow, *et al.* (eds.) WHO Classification of Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissue, Lyon, France, 4th edition, IARC, 2017
2. Reikvam H, *et al.* J Biomed Biotechnol. 2011; 2011:104631.
3. Grimwade, *et al.* Blood. 2001;98(5):1312-1320.
4. Harrison, *et al.* Journal of Clinical Oncology. 2010;28(16):2674-2681.
5. Grimwade, *et al.* Blood. 2010;116(3):354-365.
6. Arsham, MS., Barch, MJ. and Lawce HJ. (eds.) (2017) *The AGT Cytogenetics Laboratory Manual*. New Jersey: John Wiley & Sons Inc.
7. Mascarello JT, Hirsch B, Kearney HM, *et al.* Section E9 of the American College of Medical Genetics technical standards and guidelines: fluorescence in situ hybridization. Genet Med. 2011;13(7):667-675.
8. Wiktor AE, Dyke DLV, Stupca PJ, Ketterling RP, Thorland EC, Shearer BM, Fink SR, Stockero KJ, Majorowicz JR, Dewald GW. *Preclinical validation of fluorescence in situ hybridization assays for clinical practice*. Genetics in Medicine. 2006;8(1):16–23.

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: Sargāt no saules gaismas	5.3.2
	Iv: Temperatūras ierobežojums	5.3.7
	Iv: Skatīt lietošanas instrukciju	5.4.3
	Iv: Skatīt elektronisko lietošanas instrukciju	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-pasts: probes@cytoCell.com
Tīmeklī: www.ogt.com



Sysmex Europe SE
Bornbarch 1
22848 Norderstedt
VÄCIJA

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

Lietošanas instrukcijas variantu vēsture

V001.00 2023-01-11: Jauna lietošanas instrukcija atbilstoši Regulai (ES) 2017/746.