



A Sysmex Group Company



Kasutusjuhend

REF: CE-LPH 022-S / CE-LPH 022

CBFβ (CBFB)/MYH11 Translocation, Dual Fusion Probe



AINULT ERIALASEKS KASUTUSEKS



Lisateave ja muud keeled on saadaval aadressil ogt.com/IFU

Kasutusotstarve

Sond CytoCell® CBFβ (CBFB)/MYH11 Translocation, Dual Fusion Probe on kvalitatiivne, mitteautomaatne, fluorestsents *in situ* hübriidsatsiooni (FISH) uuring, mida kasutatakse 16. kromosoomi 16p13.1 piirkonna ja 16. kromosoomi 16q22 piirkonna vaheliste kromosomaalsete ümberkorralduste tuvastamiseks Carnoy lahuses (3:1 metanool/atseethape) fikseeritud hematoloogiliselt tuletatud rakuspensioonides, mis pärinevad kinnitatud või kahtlustatud ägeda müeloidse leukeemia (AML) patsientidelt.

Näidustused

See seade on loodud täiendusena teistele kliinilistele ja histopatoloogilistele uuringutele tunnustatud diagnostilistes ja kliinilistes raviteedes, kus teadmised CBFβ::MYH11 translokatsiooni oleku kohta on kliinilise ravi seisukohalt olulised.

Piirangud

Seade on loodud tuvastama murdepunktidega ümberkorraldusi sondikomplekti punase ja rohelise klooniga kaetud piirkonnas, mis sisaldab CBFβ ja MYH11 piirkondi. Piirkonnast väljajäävaid murdepunkte või alternatiivseid ümberkorralduste variante, mis jäävad selle piirkonna sisse, ei pruugita selle seadmega tuvastada.

See seade pole ette nähtud kasutamiseks iseseisva diagnostilise vahendina, diagnostilise abivahendina, prenataalseks analüüsimiseks, populatsioonipõhiseks skriininguks, patsiendilähedaseks analüüsimiseks või iseendal analüüsimiseks.

See seade on sobimatu kasutamiseks muude proovitüüpide ega haigustüüpide korral ega muuks kasutusotstarbeks, peale selle, mis on kasutusotstarbes täpsustatud.

Seade on ette nähtud muude laboratoorsete analüüside täiendamiseks ja ravi ei tohiks alustada, põhinedes vaid FISH-i tulemustel.

FISH-i tulemusi peab tõlgendama ja nendest teavitama vastava kvalifikatsiooniga personal vastavalt erialastele kutsesstandarditele ja võttes arvesse muid asjakohaseid analüüsitulemusi ning muud kliinilist ja diagnostilist teavet.

See seade on ette nähtud ainult erialaseks laboratoorseks kasutamiseks.

Protokolli järgimata jätmine võib mõjutada analüüsi toimivust ja põhjustada valepositiivseid/negatiivseid tulemusi.

Analüüsi põhimõte

Fluorestsents *in situ* hübriidsatsioon (FISH) on meetod DNA järjestuste tuvastamiseks metafaasi kromosoomides või fikseeritud tsütogeneetiliste proovide interfaasi tuumades. Meetod kasutab DNA sonde, mis hübriidseeritakse kogu kromosoomi või üksiku unikaalse järjestusega ning toimib G-vöödi tsütogeneetiliste analüüside võimeka täiendusena. Seda meetodit saab nüüd rakendada prenataalse, hematoloogilise ja tahke kasvaja kromosomaalse analüüsi esmatähtsa uuringu tööriistana. Pärast fikseeritud ja denatureeritud sihtmärk-DNA on saadaval sarnase denatureeritud, fluorestsentsmarkeriga DNA sondiga paardumiseks, millel on komplementaarne järjestus. Peale hübriidsatsiooni eemaldatakse seondumata ja ebaspetsiifiliselt seotud DNA

sond ning DNA visualiseeritakse vastandvärvimisega. Seejärel võimaldab fluorestsentsmikroskoopia hübriidseeritud sondi visualiseerimist sihtmärkmaterjalil.

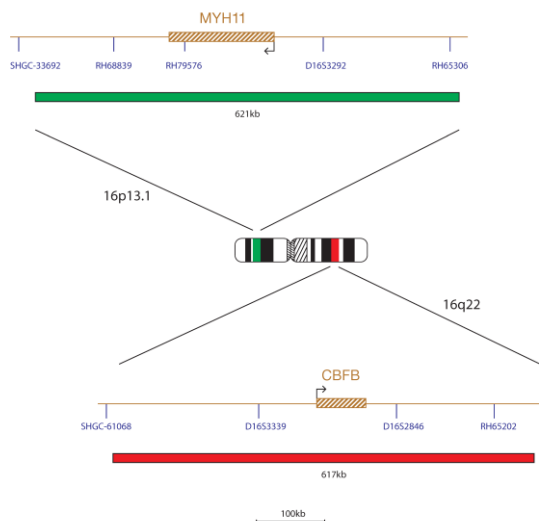
Sondi teave

CBFB (tuumasiduva faktori beeta-alamühik) geen on asukohas 16q22, MYH11 (müosiini raske ahel 11) geen on asukohas 16p13.1. Inversioon inv(16)(p13.1q22) ja translokatsioon t(16;16) (p13.1;q22) põhjustavad CBFβ::MYH11 fusioonegeeni. Äge müeloidne leukeemia CBFβ::MYH11 fusiooniga on tunnustatud haigusüksus vastavalt Maailma Terviseorganisatsiooni (WHO) klassifikatsioonile¹. AML tüüp esineb 5–8% juhtudest noorematel täiskasvanud patsientidel ja selle esinemissagedus langeb vanematel täiskasvanutel¹. Inv(16)(p13.1q22) on kõige levinum tsütogeneetilise aberratsioon, mida tuvastatakse ~95% CBFβ::MYH11 patsientidest¹. CBFβ::MYH11-ga AML-i prognoos on soodne ja täiskasvanute pikaajalise elulemuse määr on ~50%^{1,2}.

Sondi spetsifikatsioon

CBFB, 16q22, punane
MYH11, 16p13.1, roheline

CMP-H077 v005.00



Punasega märgistatud CBFB sond hõlmab 617kb piirkonda 16q22 sees ja sisaldab CBFβ geeni. Rohelisega märgistatud MYH11 sond hõlmab 621kb piirkonda 16p13.1 sees ja sisaldab MYH11 geeni.

Tarnitavad materjalid

Sond: 50 µl viali kohta (5 analüüsi) või 100 µl viali kohta (10 analüüsi)
Sondid tarnitakse hübriidsatsioonilahusega eelsegatuna (< 65% formamiid; < 20 mg dekstraansulfaat; < 10% 20-kordne naatriumsitraadi soolalahus (saline-sodium citrate, SSC)) ja on valmis kasutamiseks.

Vastandvärv: 150 µl viali kohta (15 analüüsi)
Vastandvärv on pleekimisvastane DAPI ES (sisaldus 0,125 µg/ml DAPI (4,6-diamidino-2-fenüülindool) glütseroolipõhises kinnituskeskkonnas).

Hoiatused ja ettevaatusabinõud

1. Kasutamiseks *in vitro* diagnostikas. Ainult erialaseks laboratoorseks kasutamiseks.
2. Sondi segud sisaldavad formamiidi, mis on teratogeenne; ärge hingake sisse aere ning vältige kontakti nahaga. Käsitsege ettevaatlikult; kasutage kindaid ja laborikittlit.
3. Käsitsege DAPI-t ettevaatlikult; kasutage kindaid ja laborikittlit.
4. Ärge kasutage, kui vial(id) on kahjustatud või kui vialii sisu on mistahes viisil rikutud.
5. Tootejätmete ohutuks käitlemiseks järgige kohalikke jäätmekäitlusekirju ja kemikaali ohutuskaidil toodud soovitusi. See kehtib ka kahjustatud analüüsikomplekti sisule.
6. Vabanege kõigist kasutatud reaktiividest ja muudest saastunud ühekordseks kasutuseks ette nähtud vahenditest nakkusohlike või potentsiaalselt nakkusohlike jäätmete käitlemise eeskirjade kohaselt. Iga labor peab ise vedelaid ja tahkeid jäätmeid käitlema vastavalt nende loomusele ja ohtlikkuse tasemele ning tagama nende käitlemise ja kõrvaldamise (või laskma need käidelda ja kõrvaldada) vastavalt kehtivatele eeskirjadele.
7. Kasutajad peavad olema suutelised eristama punast, sinist ja rohelist värvi.
8. Esitatud protokolli ja reaktiivide järgimata jätmine võib mõjutada analüüsi toimivust ja põhjustada valepositiivseid/valenegatiivseid tulemusi.
9. Sondi ei tohiks lahjendada ega segada teiste sondidega.
10. Kui enne denaturatsiooni ei kasutata 10 µl sondi, nagu on protokollis ette nähtud, siis võib see mõjutada analüüsi toimivust ja põhjustada valepositiivseid/valenegatiivseid tulemusi.
11. Kõiki tooteid tuleb enne kasutamist valideerida.
12. Sisemised kontrollid tuleb läbi viia kontrollproovidega, mis sisaldavad mõjutamata rakupopulatsioone.

Temperatuuri määratlused

- -20 °C / külmutatud / külmikus: -25 °C...-15 °C
- 37 °C: +37 °C ± 1 °C
- 72 °C: +72 °C ± 1 °C
- 75 °C: +75 °C ± 1 °C
- Toatemperatuur: +15 °C...+25 °C

Säilitamine ja käsitsemine



Komplekti tuleb säilitada külmutatuna temperatuurivahemikus -25...-15 °C kuni kehtivusaja lõpuni, mis on esitatud toote etiketil. Sondi ja vastandvärvi viaale tuleb säilitada pimedas.



FISH-i sond, pleekimisvastane DAPI ES vastandvärv ja hübriidsatsioonilahus säilitavad stabiilsuse normaalse kasutamise ajal esinevate sulatamise ja külmutamise tsüklite kestel (kus üks tsüklil kestab sondi eemaldamisest külmikut kuni sinna tagasipanekuni) – 5 tsüklit 50 µl (5 analüüsi) FISH-i sondi viaali puhul, 10 tsüklit 100 µl (10 analüüsi) FISH-i sondi viaali puhul ja 15 tsüklit 150 µl (15 analüüsi) vastandvärvi viaali puhul. Kokkupuudet valgusega tuleb piirata ja võimaluse korral alati vältida. Hoidke komponente kaasas olevas valguskindlas mahutis. Siltidel märgitudest erinevatel tingimustel säilitatud ja kasutatud komponendid ei pruugi oodatud viisil toimida ja võivad ebasoodsalt mõjutada analüüsitulemusi. Piirake iga hinna eest kokkupuudet valgusega ja temperatuurimuutustega.

Seadmed ja materjalid, mis on vajalikud, kuid mida ei tarnita

Kasutada tuleb kalibreeritud seadmeid.

1. Kuumutusplaat (täisplaadi ja täpse temperatuuriregulaatoriga kuni 80 °C)
2. Kalibreeritud erineva mahuga mikropipetid ja otsikud vahemikus 1–200 µl
3. Vesivann, täpse temperatuuriregulaatoriga 37 °C ja 72 °C juures
4. Mikrotsentrifuugi katsutid (0,5 ml)
5. Fluorestsentsmikroskoop (vt jaotist Fluorestsentsmikroskoobi soovitusel)
6. Faasikontrastmikroskoop
7. Läbipaistvast plastist, keraamilised või kuumakindlast klaasist Coplini anumad
8. Pintsetid
9. Kalibreeritud pH-meeter (või pH indikaatorribad vahemikus pH 6,5–8,0)
10. Niiskuskamber
11. Fluorestsentsmikroskoobi immersioonõli
12. Lauatsentrifuug
13. Mikroskoobi alusklaasid
14. 24x24 mm katteklasaadid
15. Taimer
16. 37 °C inkubaator
17. Katteklasa liim
18. Vortex-segisti
19. Gradueeritud silindrid
20. Magnetsegisti
21. Kalibreeritud termomeeter

Valikulised seadmed, mida ei tarnita

1. Tsütogeneetiline kuivatuskamber

Vajalikud reaktiivid, mida ei tarnita

1. 20-kordne naatriumsitraadi soolalahus (SSC)
2. 100% etanool
3. Tween-20
4. 1M naatriumhüdroksiid (NaOH)
5. 1M vesinikloriid (HCl)
6. Destilleeritud vesi

Fluorestsentsmikroskoobi soovitusel

Kasutage optimaalseks visualiseerimiseks 100-vatist elavhõbelampi või sellega samaväärset ning immersioonõliga apokromaatsel objektiivil 60/63-kordse või 100-kordse suurendusega. Selles sondi komplektis kasutatud fluorofoorid aktiveeruvad ja emiteerivad järgnevatel lainepikkustel:

Fluorofoor	Eksitatsioon _{max} [nm]	Emissioon _{max} [nm]
DAPI	364	454
Rohekassinine	418	467
Roheline	495	521
Punane	596	615
Kuldne	539	561
Oranž	551	572

Veenduge, et asjakohased eksitatsiooni- ja emissioonifiltrid, mis hõlmavad eespool esitatud lainepikkusi, on mikroskoopi paigaldatud.

Kasutage kolme spektri läbilaskevõimega DAPI / roheline spektri / punase spektri filtrit või kahe spektri läbilaskevõimega roheline spektri / punase spektri filtrit roheline ja punase fluorofoori samaaegseks optimaalseks visualiseerimiseks.

Kontrollige enne kasutamist fluorestsentsmikroskoopi, et veenduda selle korrasolekus. Kasutage immersioonõli, mis on fluorestsentsmikroskoopiaks sobiv ja on madala autofluorestsentsiga. Vältige pleekimisvastase DAPI segamist immersioonõliga, kuna see segab signaali. Järgige tootja soovitusi lambi tööea ja filtrite vanuse kohta.

Proovi ettevalmistamine

Komplekt on loodud kasutamiseks Carnoy lahusega (3:1 metanool/atseethape) fikseeritud hematoloogiliselt tuletatud rakuspensioonides, mis pärinevad kinnitatud või kahtlustatud ägeda müeloidse leukeemia (AML) patsientidelt, ja ette valmistatud vastavalt labori või asutuse eeskirjadele. Valmistage ette õhu käes kuivatatud proovid mikroskoobi alusklaasidel vastavalt tsütogeneetika standardprotseduuridele. AGT *Tsütogeneetika laborijuhend* sisaldab soovitusi proovi kogumise, kultuuri istutamise, kogumise ja alusklaasi tegemise kohta.³

Lahuse ettevalmistamine

Etanooli lahused

Lahjendage 100% etanool destilleeritud veega, jälgides suhtarvu ja põhjalikult segades:

- 70%-line etanool – 7 osa 100% etanooli suhtes 3 osa destilleeritud vett
 - 85%-line etanool – 8,5 osa 100% etanooli suhtes 1,5 osa destilleeritud vett
- Säilitage lahuseid kuni 6 kuud toatemperatuuril õhukindlas nõus.

2-kordne SSC lahust

Lahjendage 1 osa 20-kordset SSC lahust 9 osa destilleeritud veega ja segage põhjalikult. Kontrollige pH-d ja kohandage, kuni pH on 7,0, kasutades NaOH või HCl vastavalt vajadusele. Säilitage lahust kuni 4 nädalat toatemperatuuril õhukindlas nõus.

0,4-kordne SSC lahust

Lahjendage 1 osa 20-kordset SSC lahust 49 osa destilleeritud veega ja segage põhjalikult. Kontrollige pH-d ja kohandage, kuni pH on 7,0, kasutades NaOH või HCl vastavalt vajadusele. Säilitage lahust kuni 4 nädalat toatemperatuuril õhukindlas nõus.

2-kordne SSC, 0,05% Tween-20 lahust

Lahjendage 1 osa 20-kordset SSC lahust 9 osa destilleeritud veega. Lisage 5 µl Tween-20 10 ml kohta ja segage põhjalikult. Kontrollige pH-d ja kohandage, kuni pH on 7,0, kasutades NaOH või HCl vastavalt vajadusele. Säilitage lahust kuni 4 nädalat toatemperatuuril õhukindlas nõus.

FISH-i protokoll

(Märkus. Veenduge, et sondi ja vastandvärvi kokkupuude labori valgustusega oleks kogu aeg piiratud).

Alusklaasi ettevalmistamine

1. Tilgutage rakuproov mikroskoobi klaasist alusklaasile. Laske kuivada. (**Valikuline, kui kasutatakse tsütogeneetilist kuivatuskambrist:** rakuproovi optimaalseks valmistamiseks tuleks kambrist kasutada temperatuuril ligikaudu 25 °C ja õhuniiskusel 50%. Kui tsütogeneetiline kuivatuskamber ei ole kättesaadav, kasutage alternatiivina tõmbekappi).
2. Kastke alusklaasid toatemperatuuril 2 minutiks 2-kordsesse SSC lahusesse ilma segamata.
3. Dehüdreerige etanoolilahuste seerias (70%, 85% ja 100%), igas 2 minutit toatemperatuuril.
4. Laske kuivada.

Enne denaturatsiooni

5. Eemaldage sond külmikust ja laske sellel soojeneda toatemperatuurile. Tsentrifugeerige katsuteid lühidalt enne kasutamist.
6. Veenduge, et sondi lahust on ühtlaselt segunenud, kasutades pipetti.
7. Eemaldage 10 µl sondi analüüsi kohta ja viige see mikrotsentrifuugi katsutisse üle. Pange ülejäänud sond kiiresti külmikusse tagasi.
8. Asetage sond ja proovislaid 5 minutiks kuumutusplaadile eelsoojenema temperatuurile 37 °C (+/- 1 °C).
9. Tilgutage 10 µl sondisegu rakuproovile ja asetage ettevaatlikult katteklasa. Lisage katteklasa liim ja laske liimil täielikult kuivada.

Denaturatsioon

10. Denatureerige proov ja sond üheaegselt, kuumutades slaidi kuumutusplaadil temperatuuril 75 °C (+/- 1 °C) 2 minutit.

Hübriidsatsioon

11. Asetage slaid niiskesse valguskindlasse kambrisse temperatuurile 37 °C (+/- 1 °C), laske seista üleöö.

Hübriidsatsioonijärgsed pesud

12. Eemaldage DAPI külmikust ja laske soojeneda toatemperatuurile.
13. Eemaldage ettevaatlikult katteklasaadid ja kõik liimijäljed.
14. Kastke slaidid 2 minutiks ilma segamata 0,4-kordsesse SSC lahusesse (pH 7,0) temperatuuril 72 °C (+/- 1 °C).
15. Kuivatage slaidi ja kastke see 30 sekundiks ilma segamata 2-kordsesse SSC lahusesse, 0,05% Tween-20 lahusesse, toatemperatuuril (pH 7,0).
16. Kuivatage slaidi ja lisage igale proovile 10 µl pleekimisvastast DAPI-d.
17. Katke katteklasaadiga, eemaldage mullid ja laske värvil pimedas kujuneda 10 minutit.
18. Vaadake fluorestsentsmikroskoobiga (vt **Fluorestsentsmikroskoobi soovitusel**).

Protseduuri soovitusel

1. Slaidide keetmine või aegumine võib fluorestsentssignaali nõrgendada.
2. Cytozell Ltd poolt toodetud või soovitatud reaktiivide asemel muude reaktiivide kasutamine võib ebasoodsalt mõjutada hübriidsatsioonitingimusi.
3. Kasutage lahuste, vesivannide ja inkubaatorite temperatuuri mõõtmisel kalibreeritud termomeetrit, sest need temperatuurid on toote optimaalseks toimimiseks kriitilise tähtsusega.

4. Pesukontsentratsioonid, pH ja temperatuurid on olulised, kuna vähene rangus võib põhjustada sondi ebaspetsiifilist sidumist ja liiga suur rangus võib põhjustada signaali puudumist.
5. Mittetäielik denatureerimine võib põhjustada signaali puudumist ja üleliigne denatureerimine võib samuti põhjustada ebaspetsiifilist seondumist.
6. Üleliigne hübridiseerimine võib põhjustada täiendavaid või ootamatuid signaale.
7. Kasutajad peaksid enne analüüsi kasutamist diagnostilisel eesmärgil protokollid oma proovidega optimeerima.
8. Suboptimaalsed tingimused võivad põhjustada ebaspetsiifilist seondumist, mida võidakse ekslikult sondi signaalina tõlgendada.

Tulemuste tõlgendamine

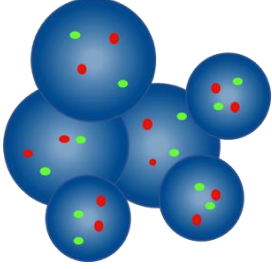
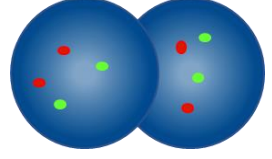
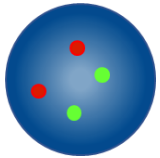
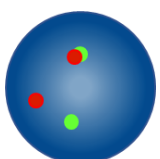
Slaidi kvaliteedi hindamine

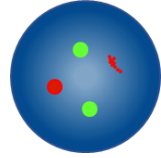
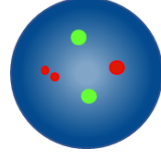
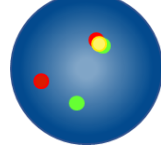
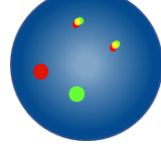
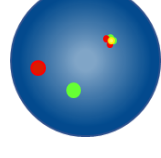
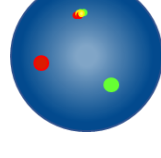
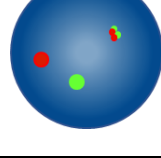
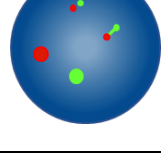
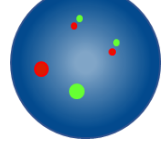
Slaidi ei tohiks analüüsida, kui:

- signaalid on ühe filtriga analüüsimiseks liiga nõrgad – analüüsi jätkamiseks peaksid signaalid olema eredad, selged ja lihtsalt hinnatavad;
- liiga palju kokkukleepunud/kattuvaid rakke segavad analüüsimist;
- >50% rakkudest pole hübridiseeritud;
- rakkude vahel on üleliigsed fluorestsentsosakesed ja/või fluorestsentshägud, mis segab signaali – optimaalsetel slaididel peaks taust tunduma tume või must ja puhas;
- rakutuuma piire ei saa eristada ja need pole terviklikud.

Analüüsi eeskirjad

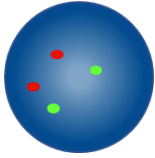
- Igat proovi peaks analüüsima ja tõlgendama kaks analüütikut. Kõik lahknerved tuleks lahendada kolmanda analüütiku hinnanguga.
- Analüütikud peaks olema riiklikult tunnustatud standardite kohase väljaõppega.
- Iga analüütik peaks hindama eraldi 100 tuuma iga proovi kohta. Esimene analüütik peaks alustama slaidi vasakult küljelt ja teine analüütik paremalt küljelt.
- Iga analüütik peaks oma tulemused üles märkima eraldi andmekandjale.
- Analüüsige vaid terviklikke tuumi, mitte kattuvaid või kokkukleepunud või tsütoplasma jääkidega kaetud ega tugevasti autofluorestseerivaid tuumi.
- Vältige alasid, kus esineb liigseid tsütoplasma jääke või ebaspetsiifilist hübridisatsiooni.
- Signaali tugevus võib vahelduda, isegi ühe tuuma piires. Sellistel juhtudel kasutage üksikfiltrid ja/või kohandage fokaaltasandit.
- Suboptimaalsete tingimuste korral võivad signaalid hajuda. Kui kaks sama värvi signaali puutuvad kokku või nendevaheline kaugus ei ole suurem kui kaks signaalipikkust või kui kaht signaali ühendab ähmane niit, lugege signaalid üheks.
- Kui kahtlete, kas proov on analüüsimiseks sobiv, siis ärge analüüsige seda.

Analüüsi eeskirjad	
	Mitte lugeda, kui tuumad on piiride määramiseks üksteisele liiga lähedal
	Mitte lugeda kattuvaid tuumasid, sest mõlema tuuma kõiki alasid ei ole näha
	Eeldatav normaalne signaalimuster (2P2R)
	Normaalne signaalimuster (2P2R) – kolokaliseeritud üks punane ja üks roheline signaal

	Normaalne signaalimuster (2P2R) – üks kahest punasest signaalist on difuusne
	Normaalne signaalimuster (2P2R) – ühe punase signaali tühimik on kahest sondilaiusest väiksem
	Normaalne signaalimuster (2P2R) – kolokaliseeritud üks punane ja üks roheline signaal
	Eeldatav ebanormaalne signaalimuster (1P1R2F) – punase ja rohelised fusioonisignaalid on proportsionaalselt väiksemad
	Eeldatav ebanormaalne signaalimuster (1P1R2F) – kolokaliseeritud fusioonisignaalid
	Eeldatav ebanormaalne signaalimuster (1P1R2F) – kolokaliseeritud fusioonisignaalid
	Eeldatav ebanormaalne signaalimuster (1P1R2F) – kaks fusioonisignaali üksteise kõrval
	Lugeda ühe punase, ühe rohelise ja kahe fusioonisignaali – üks fusioonisignaal on difuusne
	Lugeda ühe punase, ühe rohelise ja kahe fusioonisignaali – punase ja rohelise signaali vaheline tühimik fusioonides on kahest sondilaiusest väiksem ning fusiooni punane ja roheline signaal on proportsionaalselt väiksemad

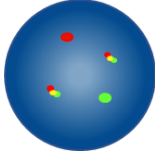
Eeldatavad tulemused

Eeldatav normaalne signaalimuster



Normaalse raku eeldatav tulemus on kaks punast ja kaks rohelist signaali (2P2R)

Eeldatavad ebanormaalsed signaalimustrid



Inv(16)(p13.1;q22) või t(16;16)(p13.1;q22) rakus on eeldatav signaalimuster üks punane, üks roheline ja kaks fusiooni (1P1R2F).

Aneuploidsete/tasakaalustamata proovides võivad esineda teised signaalimustrid.

Teadaolevad asjakohased segajad / segavad ained

Asjakohaseid segajaid / segavaid aineid pole teada.

Teadaolev ristreaktiivsus

Teadaolev ristreaktiivsus puudub.

Teavitamine tõsisest juhtumist

Patsientidele / kasutajatele / kolmandatele osapooltele Euroopa Liidus ja identsete eeskirjadega riikides (määrus (EL) 2017/746 *In vitro* diagnostikameditsiiniseadmet e kohta): kui seadme kasutamise käigus või seoses selle kasutamisega on leidnud aset tõsine juhtum, tuleb sellest teavitada tootjat ja riiklikku pädevat ametiasutust. Muudes riikides tuleb tõsisest juhtumist teavitada tootjat ja, kui see on nõutav, riiklikku pädevat ametiasutust.

Tootja järelevalve kontaktandmed: vigilance@ogt.com

Järelevalvet teostavate ELi riiklike pädevate ametiasutuste loend on esitatud lehel: https://health.ec.europa.eu/medical-devices-sector/new-regulations/contacts_en

Spetsiifilised toimivuskarakteristikud

Analüütiline spetsiifilisus

Analüütiline spetsiifilisus on määratletud kui üksnes õige lookusega hübriidiseeritud signaalide protsentarv. Analüüsiti kaht kromosomaalset lookust viie proovi kõigis kahekümnes metafaasi rakus, saades 200 andmepunkti. Iga hübriidiseeritud sondi asukoht kaardistati ja õige lookusega hübriidiseeritud metafaasi kromosoomi FISH-i signaalide arv salvestati.

Iga toode analüütilise spetsiifilisuse number arvutati, jagades õige lookusega hübriidiseeritud metafaasi kromosoomi FISH-i signaalide arvu hübriidiseeritud metafaasi kromosoomi FISH-i signaalide koguarvuga, saadud tulemus korrutati 100-ga, väljendati protsendina ja anti 95% usaldusvahemik.

Tabel 1. Soni CBFβ (CBFB)/MYH11 Translocation, Dual Fusion Probe analüütiline spetsiifilisus

Sihimärk	Hübriidiseeritud metafaasi kromosoomide arv	Õigesti hübriidiseeritud lookuste arv	Analüütiline spetsiifilisus	95% usaldusvahemik
16q22	200	200	100%	98,12–100%
16p13.1	200	200	100%	98,12–100%

Analüütiline tundlikkus

Analüütiline tundlikkus on hinnatavate interfaasi rakkude protsent eeldatava normaalse signaalimustri suhtes. Iga 25 fikseeritud luuüdi proovi kohta analüüsiti vähemalt 200 interfaasi raku, saades tulemuseks vähemalt 5000 tuuma iga proovituubi kohta. Tundlikkuse andmeid analüüsiti normaalse eeldatava signaalimustriga rakkude protsendi alusel ja väljendati protsendina 95% usaldusvahemikuga.

Tabel 2. Soni CBFβ (CBFB)/MYH11 Translocation, Dual Fusion Probe analüütiline tundlikkus

Proovi tüüp	Tundlikkuse kriteeriumid	Tundlikkuse tulemus
Luuüdi	> 95%	98,94% (98,59%...99,29%)

Normaalse väljaarvamise piirväärtuste kirjeldus

Normaalne väljaarvamine määratletakse nende rakkude protsendina, mis näitavad valepositiivset signaalimustrit, mille korral isik loetakse normaalseks ja kliinilisele diagnoosile mittevastavaks. Iga 1300 luuüdi proovi kohta analüüsiti vähemalt 200 interfaasi raku tulemuseks vähemalt 260 000 tuuma iga proovituubi kohta.

Väljaarvamise piirväärtus määratleti MS Excelis funktsiooniga β-inverse (BETAINV). See arvutati valepositiivset signaalimustrit näitavate interfaasi rakkude protsendina, kasutades normaalse patsiendiproovi binominaalse jaotuse ühepoolse 95% usaldusvahemiku ülemist seotust.

Tabel 3. Soni CBFβ (CBFB)/MYH11 Translocation, Dual Fusion Probe normaalse väljaarvamise piirväärtuste kirjeldus

Proovi tüüp	Väljaarvamise tulemus
Luuüdi	2,3%

Laborid peavad oma andmete põhjal kinnitama väljaarvamise piirväärtused.^{4,5}

Reprodutseeritavus

Tehti järgmised reprodutseeritavuse uuringud:

- 3 uuringukoha päevasine reprodutseeritavus (proov-prooviga)
- 3 uuringukoha päevadevaheline reprodutseeritavus (päev-päevaga)
- 3 uuringukoha uuringukohtadevaheline reprodutseeritavus (uuringukoht-uuringukohaga)
- ühe uuringukoha partiidevaheline reprodutseeritavus (partii-partiiga)

Reprodutseeritavus tehti kindlaks kolme eraldi labori poolt, kes testisid kuut pimedat proovi (kaks ümberkorralduse suhtes negatiivset, kaks nõrgalt positiivset proovi, mis ületasid piirväärtust 1–3 korda, ja kaks tugevalt positiivset proovi, mis sisaldasid üle 45% ümberkorralduse suhtes positiivseid rakke). Analüüs viidi läbi iga proovist kahe replikaadiga viiel järjestikusel päeval.

Kõik kolm asutust viisid läbi päevasisese, päevadevahelise ja uuringukohtadevahelise testimise, kasutades ühte ja sama soni partiid, samas kui üks asutus teostas ka partiidevahelise reprodutseeritavuse testimise, kasutades kolme erinevat soni partiid.

Tulemused esitati üldise ühilduvusena prognoositud negatiivse klassiga (negatiivsete proovide korral) ja prognoositud positiivse klassiga (positiivsete proovide korral).

Tabel 4a. Soni CBFβ (CBFB)/MYH11 Translocation, Dual Fusion Probe reprodutseeritavus ja täpsus

Muutuja	Proovi tüüp	Ühilduvus
Päevasine (proovist proovi), päevadevaheline (päevast päeva) ja uuringukohtadevaheline (uuringukohast uuringukohaga) reprodutseeritavus	Luuüdi, negatiivne	100%
	Luuüdi, nõrgalt positiivne	35%
	Luuüdi, tugevalt positiivne	100%
Partii-partiiga reprodutseeritavus	Luuüdi, negatiivne	100%
	Luuüdi, nõrgalt positiivne	33%
	Luuüdi, tugevalt positiivne	100%

Viidi läbi reprodutseeritavuse lisauuring nõrgalt positiivsete tulemuste täiendamiseks, kasutades kahte erinevate nõrgalt positiivsete tasemetega proovi (2x ja 4x piirväärtus) ja kahte negatiivset proovi, et teha kindlaks:

- ühe uuringukoha päevasine reprodutseeritavus (proov-prooviga);
- ühe uuringukoha päevasine reprodutseeritavus (päev-päevaga);
- ühe uuringukoha kasutajasisene reprodutseeritavus (kasutaja-kasutajaga).

Reprodutseeritavuse kindlaks tegemiseks kasutati ühte soni partiid, hinnati iga proovi kahte replikaati ning testiti kahe erineva kasutaja poolt viiel mittejärjestikusel päeval.

Tulemused esitati üldise ühilduvusena prognoositud positiivse klassiga (positiivsete proovide korral).

Tabel 4b. Soni CBFβ (CBFB)/MYH11 Translocation, Dual Fusion Probe reprodutseeritavuse ja täpsuse täiendavad toetavad andmed

Muutuja	Proovi tüüp	Ühilduvus
Päevasine (proovist proovi), päevadevaheline (päevast päeva) ja kasutajatevaheline (kasutajast kasutajani) reprodutseeritavus	Luuüdi, nõrgalt positiivne (2x piirväärtus)	100%
	Luuüdi, nõrgalt positiivne (4x piirväärtus)	100%

Kliiniline toimivus

Tagamaks, et sond CBFβ (CBFB)/MYH11 Translocation, Dual Fusion Probe tuvastab ettenähtud ümberkorraldused, tehti toote kliiniline toimivus kindlaks toote sihtpopulatsiooni esindusproove hõlmava nelja (4) uuringuga: 3:1 metanool/atseet-fikseeritud jääkmaterjal. Nende uuringute kombineeritud proovide hulk oli kolmsada üheksakümmend kolm (393) proovi, millest kokku kaksikümmend kaheksa (28) olid positiivsed proovid ja kolmsada kuuskümmend viis (365) negatiivsed proovid. Tulemusi võrreldi proovi teadaoleva olekuga. Tulemuste ühilduvuse/ebakõla tulemused vastasid selle uuringu vastuvõetavuskriteeriumidele. Testide tulemusi analüüsiti ühemõõtelise meetodiga, et selgitada välja positiivsete signaalide

kliinilise tundlikkuse, kliinilise spetsiifilisuse ja valepositiivsuse määra (FPR) väärtused.

Tabel 5. Sondi CBFβ (CBFB)/MYH11 Translocation. Dual Fusion Probe kliiniline toimivus

Muutuja	Tulemus
Kliiniline tundlikkus (true positive rate, TPR) (tõeselt positiivsete määr)*	98,76%
Kliiniline spetsiifilisus (true negative rate, TNR) (tõeselt negatiivsete määr)*	99,52%
Valepositiivsete määr (false positive rate, FPR) = 1 – spetsiifilisus*	0,48%

Ohutuse ja toimivuse kokkuvõte (OTK)

OTK tehakse avalikkusele ligipääsetavaks Euroopa meditsiiniseadmete andmebaasi (Eudamed) kaudu, kus see on seotud põhi-UDI-DI-ga.

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

Põhi-UDI-DI: 50558449LPH022J9

Kui Eudamed ei toimi täielikult, tehakse OTK avalikkusele ligipääsetavaks nõudmisel meili teel SSP@ogt.com.

Lisateave

Lisateavet saate, kui võtate ühendust ettevõtte CytoCell tehnilise toe osakonnaga.

Tel: +44 (0)1223 294048












E-post: techsupport@cytoCELL.com




Veebisait: www.ogt.com

Viited

1. WHO Classification of Tumours Editorial Board. *Haematolymphoid tumours* [Internet; beta version ahead of print]. Lyon (France): International Agency for Research on Cancer; 2022 [cited 2023 Nov 03]. (WHO classification of tumours series, 5th ed.; vol. 11). Available from: <https://tumourclassification.iaarc.who.int/chapters/63>
2. Döhner, et al. *Blood*. 2022;140(122):1345-1377.
3. Arsham, MS., Barch, MJ. and Lawce HJ. (eds.) (2017) *The AGT Cytogenetics Laboratory Manual*. New Jersey: John Wiley & Sons Inc.
4. 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.
5. Wiktor AE, Dyke DL, Stupca PJ, Ketterling RP, Thorland EC, Shearer BM, Fink SR, Stockero KJ, Majorowicz JR, Dewald GW. *Preclinical validation of fluorescence in situ hybridization assays for clinical practice*. *Genetics in Medicine*. 2006;8(1):16–23.

Sümbolite sõnastik

EN ISO 15223-1:2021 – „Meditsiiniseadmed – Sümbolid, mida kasutatakse koos tootja poolt esitatava teabega – 1. osa: Üldnõuded“ (© International Organization for Standardization)		
Sümbol	Pealkiri	Viitenumber (-numbrid)
	et: Tootja	5.1.1
	et: Volitatud esindaja Euroopa Ühenduses / Euroopa Liidus	5.1.2
	et: Kõlblik kuni	5.1.4
	et: Partii number	5.1.5
	et: Kataloogi number	5.1.6
	et: Hoidke päikesevalguse eest kaitstult	5.3.2
	et: Temperatuuripiirang	5.3.7
	et: Vt kasutusjuhised	5.4.3
	et: Lugege elektroonilist kasutusjuhendit	5.4.3
	et: Hoiatus!	5.4.4
	et: <i>In vitro</i> diagnostikameditsiiniseade	5.5.1

	et: Sisaldus piisav <n> analüüsi jaoks	5.5.5
	et: Seadme unikaalne identifikaator	5.7.10
IVD reaktiivide ja komponentide EDMA sümbolid, 2009. a oktoobri väljaanne		
Sümbol	Pealkiri	Viitenumber (-numbrid)
	et: Sisu (või sisaldab)	Ei kohaldata

Patendid ja kaubamärgid

CytoCell on ettevõtte CytoCell Limited registreeritud kaubamärk.



CytoCell Limited

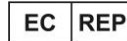
Oxford Gene Technology
418 Cambridge Science Park
Milton Road
CAMBRIDGE
CB4 0PZ
ÜHENDKUNINGRIIK

Tel: +44 (0)1223 294048

Faks: +44 (0)1223 294986

E-post: probes@cytoCELL.com

Veebisait: www.ogt.com



Sysmex Europe SE

Bornbarch 1
22848 Norderstedt
SAKSAMAA

Tel: +49 40 527260

Veebisait: www.sysmex-europe.com

Kasutusjuhendi versioonialugu

V001 2023-10-09: Uus kasutusjuhend kooskõlas määrusega (EL) 2017/746.