



A Sysmex Group Company



## Kasutusjuhend

REF: CE-LPH 027-S / CE-LPH 027

## AML1 (RUNX1) Breakapart Probe



AINULT ERIALASEKS KASUTAMISEKS



Lisateave ja muud keeled on saadaval aadressil [ogt.com/IFU](http://ogt.com/IFU)

### Kasutusotstarve

Sond CytoCell® AML1 (RUNX1) Breakapart Probe on kvalitatiivne, mitteautomaatne, fluorestsents *in situ* hübriidsatsiooni (FISH) uuring, mida kasutatakse 21. kromosoomi 21q22.1 piirkonna kromosomaalsete ümberkorralduste tuvastamiseks Carnoy lahuses (3:1 metanool/atseethape) fikseeritud hematoloogiliselt tuletatud rakuspensionides, mis pärinevad kinnitatud või kahtlustatud ägeda müeloidse leukeemia (AML) või ägeda lümfoblastse leukeemia (ALL) patsientidelt.

### Näidustus

See seade on loodud täiendusena teistele kliinilistele ja histopatoloogilistele uuringutele tunnustatud diagnostilistes ja kliinilistes raviteedes, kus teadmised AML1 (RUNX1) ümberkorralduse oleku kohta on kliinilise ravi seisukohalt olulised.

### Piirangud

Seade on loodud tuvastama murdepunktidega ümberkorraldusi sondikomplekti punase ja rohelise klooniga seotud piirkonnas, mis sisaldab AML1 (RUNX1) piirkonda. Piirkonnast väljajäävaid murdepunkte või alternatiivseid ümberkorralduste variante, mis jäävad selle piirkonna sisse, ei pruugita selle seadmega tuvastada. Hajutatud murdepunkti piirkonna tõttu ägeda lümfoblastse leukeemia (ALL) mõnes ümberkorralduses võivad kasutajad märgata erinevaid signaalimustreid.

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

Seda seadet ei ole valideeritud kasutamiseks muude proovitüüpide ega haigustüüpide korral ega muuks kasutusotstarbeks, peale selle, mis on kasutusotstarbes täpsustatud.

Seade on ette nähtud muude laboratoorse 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 kutsestandarditele ja võttes arvesse muid asjakohaseid analüüsitulemusi ning muud kliinilist ja diagnostilist teavet.

See seade on ette nähtud vaid erialaseks laboratoorseks kasutamiseks.

Protokoll 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 esmatahtsa uuringu tööriistana. Fikseeritud ja denatureeritud sihtmärk-DNA on saadaval sarnase denatureeritud, fluorestsentsmarkeriga DNA sondiga paardumiseks, millel on komplementaarne järjestus. Peale hübriidseerimist

eemaldatakse seondumata ja ebaspetsiifiliselt seotud DNA sond ning DNA visualiseeritakse vastandvärvimisega. Seejärel võimaldab fluorestsentsmikroskoopia hübriidseeritud sondi visualiseerimist sihtmärkmaterjalil.

### Sondi teave

RUNX1 (RUNX perekonna transkriptsioonifaktor 1) geen asukohas 21q22.1 on üks sagedasem kromosomaalsete ümberkorralduste sihtmärk, mida on inimese ägeda leukeemia puhul täheldatud.

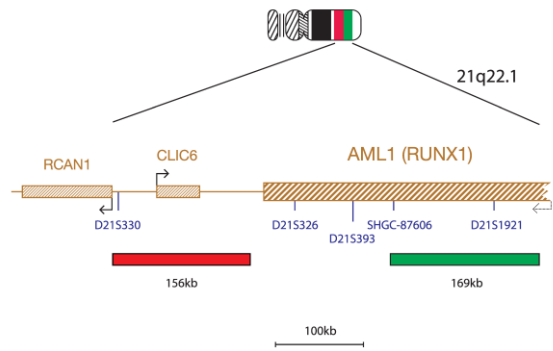
Kõige sagedasemad ümberkorraldused on ETV6::RUNX1 ja RUNX1::RUNX1T1 fusioonid. ETV6::RUNX1 fusioon tekib t(12;21)(p13.2;q22.1) translokatsiooni tagajärjel, mida on leitud ligikaudu 21% lapsea B-rakulise ägeda lümfoblastse leukeemia (ALL) juhtudest<sup>1</sup>, kuid RUNX1::RUNX1T1 fusioon tekib t(8;21)(q21.3;q22.1) translokatsiooni tagajärjel, mida on leitud 10–22% ägeda müeloidse leukeemia (AML) FAB (Prantsuse-Ameerika-Briti klassifikatsioon) M2 tüübiga patsientidel ja 5–10% kõikidest AML-i juhtudest<sup>2,3</sup>. Mõlemat ümberkorraldust peetakse haiguste hea prognoosi indikaatoriks<sup>4,5</sup>.

RUNX1 geeni ümberkorraldus esineb ka paljude teiste haruldasemate translokatsioonidega, mille korral on partner-kromosoomid 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 9, 10, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20 ja X<sup>6</sup>. Lahutatav sond on loodud võimaldama tuvastada ümberkorraldusi partnergeenist sõltumata.

### Sondi spetsifikatsioon

AML1, 21q22.1, punane  
AML1, 21q22.1, roheline

CMP-H003 V007.00



AML1 sondisega hõlmab punasega märgistatud 156 kb sondi, mis on AML1 (RUNX1) geeni suhtes tsentromeerne ja ulatub üle CLIC6 geeni, ja rohelisega märgistatud 169 kb sondi, mis katab osa AML1 (RUNX1) geenist, sealhulgas markereid SHGC-87606 ja D21S1921.

### Tarnitavad materjalid

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

**Vastandvärv:** 150 µl viaali kohta (15 analüüsi)

Vastandvärv on pleekimisvastane DAPI ES (sisaldus 0,125 µg/ml DAPI (4,6-diamidino-2-fenüülindool) glütserooli põhises kinnituskokkonnas).

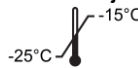
### Hoiatused ja ettevaatusabinõud

1. Kasutamiseks *in vitro* diagnostikas. Ette nähtud vaid erialaseks laboratoorseks kasutamiseks.
2. Sondi segud sisaldavad formamiidi, mis on teratogeenne; ärge hingake sisse auru ning vältige kontakti nahaga. Käsitsege ettevaatlikult; kasutage kindaid ja laborikilti.
3. Käsitsege DAPI-t ettevaatlikult; kasutage kindaid ja laborikilti.
4. Ärge kasutage, kui viaal(id) on kahjustatud või kui viaali sisu on mistahes viisil rikitud.
5. Tootejätmete ohutuks käitlemiseks järgige kohalikke jäätmekäitluseeskirju ja kemikaali ohutuskaardil 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 protokoll ja reaktiivide järgimata jätmine võib mõjutada analüüsi toimivust ja põhjustada valepositiivseid/valenegatiivseid tulemusi.
9. Sondi ei tohiks lahjendada ega segada teiste sondidega.
10. Kui denatureerimise eel etapil 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 kehtivusaaja lõpuni, mis on esitatud toote etiketil. Sondi ja vastandvärvi viaale tuleb säilitada pimedas.



FISH-i sond, pleekimisvastane DAPI ES vastandvärv ja hübriidseerimislahus säilitavad stabiilsuse normaalse kasutamise ajal esinevate sulatamise ja külmutamise tsüklite kestel (kus üks tsükkel kestab sondi eemaldamisest külmikust kuni sinna tagasipanekuni) – 5 tsükli 50 µl (5 analüüsi) FISH-i sondi viaali puhul, 10 tsükli 100 µl (10 analüüsi) FISH-i sondi viaali puhul ja 15 tsükli 150 µl (15 analüüsi) vastandvärvi viaali puhul. Kokkupuudet valgusega tuleb piirata ja võimaluse korral alati vältida. Hoidke komponente kaasas olevas valguskindlas mahutis. Siltidel märgitud erinevatel tingimustel säilitatud ja kasutatud komponendid ei pruugi oodatud viisil toimida ja võivad 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 lõiku 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 katteklasisid
15. Taimer
16. 37 °C inkubaator
17. Katteklasi liim
18. Vortex-segisti
19. Gradueeritud silindrid
20. Magnetsegisti
21. Kalibreeritud termomeeter

## Valikulised seadmed, mida ei tarnita

1. Tsütogeneetilise kuivatuskamber

## Vajalikud reaktiivid, mida ei tarnita

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

## Fluorestsentsmikroskoobi soovitusel

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

Fluorofoor	Eksitatsioon <sub>max</sub> [nm]	Emissioon <sub>max</sub> [nm]
Roheline	495	521
Punane	596	615

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 samaaegselt 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 lahuses (3:1 metanool/atseethape) fikseeritud hematoloogiliselt tuletatud rakususpensioonidega, mis on ette valmistatud vastavalt labori või asutuse eeskirjadele. Valmistage ette õhu käes kuivatatud mikroskoobi alusklaasid vastavalt tsütogeneetika standardprotseduuridele. AGT *Tsütogeneetika laborijuhend* sisaldab soovitusi proovi kogumise, kultuuri istutamise, kogumise ja slaidi tegemise kohta<sup>7</sup>.

## Lahuse ettevalmistamine

### Etanooli lahused

Lahendage 100%-line etanool destilleeritud veega, jälgides suhtarvu ja põhjalikult segades:

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

### 2-kordne SSC lahus

Lahendage 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 lahus

Lahendage 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 lahus

Lahendage 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).

### Slaidi ettevalmistamine

1. Tilgutage rakuproov mikroskoobi klaasist alusklaasile. Laske kuivada. (Tsütogeneetilise kuivatuskambri kasutamisel võite toimida järgmiselt: optimaalseks slaidi valmistamiseks tuleks kambrist kasutada temperatuuril ligikaudu 25 °C ja õhuniiskusel 50%. Kui tsütogeneetiline kuivatuskamber ei ole kättesaadav, kasutage alternatiivina tõmbekappi).
2. Kastke slaidid toatemperatuuril 2 minutiks 2-kordsesse SSC lahusesse ilma segamata.
3. Dehüdrateerige etanoolilahuste seerias (70%, 85% ja 100%), igas 2 minutit toatemperatuuril.
4. Laske kuivada.

### Enne denaturatsiooni

5. Eemaldage sond külmikust ja laske sel 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. Tagastage ülejäänud sond kiiresti külmikusse.
8. Asetage sond ja proovislaid 5 minutiks kuumutusplaadile eelsoojenema temperatuurile 37 °C (+/-1 °C).
9. Tilgutage 10 µl sondisegu rakuproovile ja asetage ettevaatlikult katteklasi. Lisage katteklasi liim ja laske liimil täielikult kuivada.

### Denaturatsioon

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

### Hübriidatsioon

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

### Hübriidatsioonijärgsed pesud

12. Eemaldage DAPI külmikust ja laske soojeneda toatemperatuurile.
13. Eemaldage ettevaatlikult katteklasisid 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 slaid ja kastke see 30 sekundiks ilma segamata 2-kordsesse SSC lahusesse, 0,05% Tween-20 lahusesse, toatemperatuuril (pH 7,0).
16. Kuivatage slaid ja lisage igale proovile 10 µl pleekimisvastast DAPI-d.
17. Katke katteklasisiga, 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. Cytocell Ltd poolt toodetud või soovitatud reaktiivide asemel muude reaktiivide kasutamine võib ebasoodsalt mõjutada hübriidseerimistingimusi.
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 hübriidseerimine võib põhjustada täiendavaid või ootamatuid signaale.
7. Kasutajad peaksid enne analüüsi kasutamist diagnostilisel eesmärgil protokollil oma proovidega optimeerima.

8. Suboptimaalsed tingimused võivad põhjustada ebaspetsiifilist seondumist, mida võidakse ekslikult sondi signaalina tõlgendada.

### Tulemuste tõlgendamine

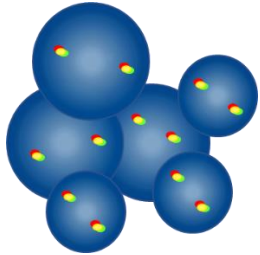
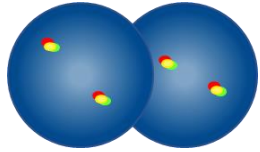
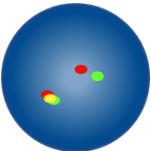
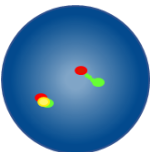
#### Slaidi kvaliteedi hindamine

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;
- üle 50% rakkudest pole hübriidiseeritud;
- 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 teravilised.

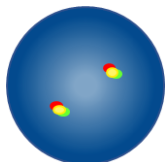
#### Analüüsi eeskirjad

- Igat proovi peaks analüüsima ja tõlgendama kaks analüütikut. Kõik lahknemused tuleks lahendada kolmanda analüütiku hinnanguga.
- Analüütikud peaksid 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 teraviliseid tuumi, mitte kattuvaid või kokkukleepunud või tsütöplasma jääkidega kaetud ega autofluorestsentseeritud tuumi.
- Vältige alaseid, kus esineb liigseid tsütöplasma jääke või ebaspetsiifilist hübriidiseerimist.
- Signaali tugevus võib vahelduda, isegi ühe tuuma piires. Sellistel juhtudel kasutage üksikfiltrid ja/või kohandage fokaalsetasandit.
- Suboptimaalsete tingimuste korral võivad signaalid hajuda. Kui kaks sama värvi signaali puutuvad kokku või nendevaheline kaugus ei ole suurem kui kaks signaalipikkust või signaale ühendab ähmane niit, lugege signaalid üheks.
- Kui kahevärvilise lahutatavate sondide analüüsimisel ei ole punase ja roheline signaali vahel tühimik suurem kui 2 signaalipikkust, lugege see ümber korraldamata / sulandunud signaaliks
- Kui kolmevärviliste lahutatavate sondide analüüsimisel ei ole mistahes 3 signaali (punane, roheline ja sinine) vahel tühimik suurem kui 2 signaalipikkust, lugege see ümber korraldamata / sulandunud signaaliks.
- 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 tuumi kõik alased ei ole näha
	Lugeda kahe fusioonisignaalina, kui punase ja roheline signaali vaheline tühimik on kahest signaalipikkusest väiksem
	Lugeda kahe fusioonisignaalina, kui üks fusioonisignaali on difuusne

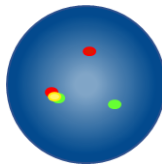
#### Eeldatavad tulemused

Eeldatav normaalne signaalimuster



Normaalse raku eeldatav tulemus on kaks punast/rohelist fusioonisignaali (2F).

Eeldatavad ebanormaalsed signaalimustrid



Tasakaalustatud *AML1 (RUNX1)* ümberkorraldusega rakus on eeldatav signaalimuster üks punane, üks roheline ja üks fusioonisignaali (1P1R1F).

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* diagnostikameditsiiniseadmete kohta): kui seadme kasutamise käigus või seoses selle kasutamisega on leitud 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](mailto: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](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 nelja kromosomaalset lookust viie proovi kõigis kahekümnes metafaasi rakus, saades 400 andmepunkti. Iga hübriidiseeritud sondi asukoht kaardistati ja õige lookusega hübriidiseeritud metafaasi kromosoomi FISH-i signaalide arv salvestati.

Arvutati komplekti iga sondi analüütilise spetsiifilisuse number, 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. Sondi *AML1 (RUNX1) Breakapart Probe* analüütiline spetsiifilisus

Sihimärk	Hübriidiseeritud metafaasi kromosoomide arv	Õigesti hübriidiseeritud lookuste arv	Analüütiline spetsiifilisus	95% usaldusvahemik
21q22.1	200	200	100%	98,12–100%
21q22.1	200	200	100%	98,12–100%

##### Analüütiline tundlikkus

Analüütiline tundlikkus on hinnatavate interfaasi rakkude protsent eeldatava normaalse signaalimustris suhtes. Kasutati *AML1 (RUNX1)* ümberkorralduse suhtes negatiivseks tunnustatud 25 Carnoy lahuses (3:1 metanool/atseethape) fikseeritud karüotüüpiliselt normaalse luuüdi proovi analüüsandmeid. Igat proovi analüüsiti 2 sõltumatud analüütikut ja salvestati iga interfaasi signaalimuster. Kumbki analüütik analüüsiti 100 tuuma proovi kohta, mis andis kokku 200 tuuma proovi kohta ja selle toote jaoks kokku 5000 hinnatavat tuuma. Tundlikkuse andmeid analüüsiti normaalse eeldatava signaalimustriga rakkude protsendi alusel ja väljendati protsendina 95% usaldusvahemikuga.

Tabel 2. Sondi *AML1 (RUNX1) Breakapart Probe* analüütiline tundlikkus

Proovi tüüp	Tundlikkuse kriteeriumid	Tundlikkuse tulemus
Luuüdi	>95%	99,48% (99,29–99,67%)

##### Normaalse väljaarvamise piirväärtuste kirjeldus

Normaalne väljaarvamine määratletakse nende rakkude protsendina, mis näitavad valepositiivset signaalimustrit, mille korral isik loetakse normaalseks ja kliinilisele diagnoosile mittevastavaks. Iga 25 fikseeritud luuüdirakususpensiooni kohta analüüsiti vähemalt 200 interfaasi rakku, saades tulemuseks vähemalt 5000 tuuma iga proovitüübi kohta.

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

Tabel 3. Sondi AML1 (RUNX1) Breakapart Probe normaalse väljaarvamise piirväärtuste kirjeldus

Proovi tüüp	Väljaarvamise tulemus
Luuüdi	3,5%

Laborid peavad oma andmete põhjal väljaarvamise piirväärtused kinnitama<sup>8,9</sup>.

#### Täpsus

Selle toote täpsus on mõõdetud päevasise täpsusena (proov-prooviga), päevadevahelise täpsusena (päev-päevaga) ja ühe asutuse partiidevahelise täpsusena (partii-partiiga).

Toote täpsuse hindamisel kasutati kaht proovi: üks normaalne luuüdiproov ja üks konstrueeritud nõrgalt positiivne luuüdiproov (2–4-kordne toote väljaarvamine, loodi normaalse luuüdiproovi väärimdamisel teadaoleva positiivse prooviga), mida kasutati toote testimisel kindlaks tehtud väljaarvamise kontrollimiseks.

Päevadevahelise ja päevasise täpsuse kindlaks tegemiseks hinnati proove kümnel mittejärjestikusel päeval ning partii-partiiga täpsuse kindlaks tegemiseks hinnati toote kolme partiid sama proovi kolme replikaadiga. Tulemused esitati üldise ühilduvusena prognoositud negatiivse klassiga (negatiivsete proovide korral).

Tabel 4. Sondi AML1 (RUNX1) Breakapart Probe reprodutseeritavus ja täpsus

Muutuja	Proovi tüüp	Ühilduvus
Päevasine (proov-prooviga) ja päevadevaheline (päev-päevaga) reprodutseeritavus	Luuüdi, negatiivne	100%
	Luuüdi, nõrgalt positiivne	100%
Partii-partiiga reprodutseeritavus	Luuüdi, negatiivne	100%
	Luuüdi, nõrgalt positiivne	100%

#### Kliiniline toimivus

Tagamaks, et toode tuvastab ettenähtud ümberkorraldused, tehti toote kliiniline toimivus kindlaks toote sihtpopulatsiooni esindusproove hõlmava kahe uuringuga: 3:1 metanooli/atseethappega fikseeritud materjal hematoloogiliselt tuletatud proovidest. Uuringute kombineeritud proovide hulk oli sada kaheksasteist (118), millest kaksteist (12) proovi olid positiivsed ja sada kuus (106) proovi olid negatiivsed kõigi uuringukohtade peale kokku. Iga proovi positiivne olek kinnitati kaubanduses saadaval oleva võrdlussondiga, mida turustab mõni konkureeriv varustaja ja mis tuvastab samu hälbeid nagu hinnatavad sondid, või võrdluses G-võõrdilise karüotüübiga.

Testide tulemusi analüüsi ühemõõtelise meetodiga, et selgitada välja positiivsete signaalide kliinilise tundlikkuse, kliinilise spetsiifilisuse ja valepositiivsuse määra (FPR) väärtused.

Tabel 5. Sondi AML1 (RUNX1) Breakapart Probe kliiniline toimivus

Muutuja	Tulemus
Kliiniline tundlikkus (true positive rate, TPR) (tõeselt positiivsete määr)	100,00%
Kliiniline spetsiifilisus (true negative rate, TNR) (tõeselt negatiivsete määr)	100,00%
Valepositiivsete määr (false positive rate, FPR) = 1–spetsiifilisus	0,00%

#### 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: 50558449LPH027JK

Kui Eudamed ei toimi täielikult, tehakse OTK avalikkusele ligipääsetavaks nõudmisel meili teel [SSP@ogt.com](mailto:SSP@ogt.com).

#### Lisateave

Lisateavet saate kontakteerudes ettevõtte CytoCell tehnilise toe osakonnaga.

Tel: +44 (0)1223 294048

E-post: [techsupport@cytozell.com](mailto:techsupport@cytozell.com)

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

#### Viited

- Jamil A *et al.*, Cancer Genet Cytogenet 2000;122(2):73-8
- Swerdlow *et al.*, (eds.) WHO Classification of Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissue, Lyon, France, 4th edition, IARC, 2017
- Reikvam H, *et al.*, J Biomed Biotechnol. 2011; 2011:104631.
- Shurtleff *et al.*, Leukemia. 1995 Dec;9(12):1985-9
- Cho *et al.*, Korean J Intern Med. 2003 Mar;18(1):13-20
- De Braekeleer *et al.*, Anticancer Research 2009;29(4):1031-1038
- Arsham, MS., Barch, MJ. ja Lawce HJ. (toim.) (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.

#### Sümbolite sõnastik

EN ISO 15223-1:2021–, Meditsiiniseadmed–Sümbolid, mida kasutatakse koos tootja poolt esitatava teabega–1. osa: Üldnõuded <sup>7</sup> (© Rahvusvaheline Standardiorganisatsioon)		
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 väljanäe		
Sümbol	Pealkiri	Viitenumber (-numbrid)
	et: Sisaldus (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@cytozell.com](mailto:probes@cytozell.com)

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



**Sysmex Europe SE**

Bornbarch 1  
22848 Norderstedt  
SAKSAMAA

Tel: +49 40 527260

Veebisait: [www.sysmex-europe.com](http://www.sysmex-europe.com)

**Kasutusjuhendi versioonijalugu**

V001 2023-01-25: Uus kasutusjuhend kooskõlas määrusega (EL) 2017/746.