



A Sysmex Group Company



Kasutusjuhend

REF: CE-LPH 089-S / CE-LPH 089

CBFB Breakapart Probe



AINULT ERIALASEKS KASUTAMISEKS



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

Kasutusotstarve

CytoCell® CBFB Breakapart Probe on kvalitatiivne, mitteautomaatne, fluorestsents *in situ* hübriidsatsiooni (FISH) analüüs, mida kasutatakse 16. kromosoomi 16q22 piirkonna kromosomaalsete ümberkorralduste tuvastamiseks Carnoy lahuses (3:1 metanool/atseethape) fikseeritud hematoloogilistest saadud rakususpensioonides, mis pärinevad kinnitatud või ägeda müeloidleukeemia (AML) kahtlusega patsientidelt.

Näidustused

See toode on loodud täiendusena muudele kliinilistele ja histopatoloogilistele analüüsidele tunnustatud diagnostilistest ja kliinilistest raviteedest, kus teadmised CBFB ümberkorralduse oleku kohta on kliinilise ravi seisukohalt olulised.

Piirangud

Seade on loodud tuvastama murdepunktidega ümberkorraldusi sondikomplekti punase ja rohelise klooniga seotud piirkonnas, mis sisaldab CBFB geeni. Piirkonnast väljajäävaid murdepunkte või alternatiivseid ümberkorralduste variante, mis jäävad selle piirkonna sisse, ei pruugita selle tootega tuvastada. 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 jätmise 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 teinistana. 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 (tuumaga seonduva faktori beeta alaüksus) geen asub 16q22-l ja selle ümberkorraldus toimub inversioon inv(16)(p13.1;q22) või translokatsiooni t(16;16)(p13.1;q22) tõttu. Harva on teatatud 16q22 translokatsioonist teiste geenipartneritega ning teatatud on vöödi 16q22 deletsioonist.¹

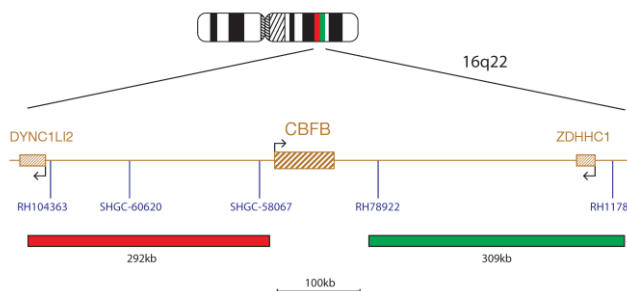
Inv(16)(p13.1;q22) või t(16;16)(p13.1;q22) põhjustatud CBFB::MYH11-ga äge müeloidne leukeemia moodustab tunnustatud haigusüksuse vastavalt Maailma Terviseorganisatsiooni (WHO) müeloidsete kasvajat ja ägeda leukeemia klassifikatsioonile.² Neid ümberkorraldusi leitakse sageli patsientidel, kellel on suurenenud eosinofiilide arvuga luudis müelomonotsütaarne lamelliik ja neid leidub 5–8%² kõigist AML-dest. See ümberkorraldus võib esineda ka raviga seotud AML-ga.^{2,3}

Inversioon inv(16)(p13.1;q22) või translokatsioon t(16;16)(p13.1;q22) põhjustavad CBFB::MYH11 geeni ümberkorraldusi ja neid liigitatakse AML-iga patsientidel soodsaks tsütogeenseks riskirühmaks.^{4,5,6}

Sondi spetsifikatsioonid

CBFB, 16q22, punane
CBFB, 16q22, roheline

CMP-H098 v001.00



Sondi CBFB Breakapart Probe segu koosneb kahest erinevast sondist. Punane sond (292 kb) on CBFB-geeni suhtes tsentromeetriline ja ulatub üle RH104363 markeri, kattes osa DYNC1L12-geeni ja hõlmab markereid SHGC-60620 ja SHGC-58067. Roheline sond (309 kb) on CBFB-geeni suhtes telomeerne ja ulatub läbi RH78922 markeri üle ZDHHC1-geeni RH11782-markeri suhtes telomeersesse piirkonda.

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 kinnituskeskonnas).

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 vial(id) on kahjustatud või kui viali sisu on mistahes viisil rikutud.
5. Tootejätmete ohutuks käitlemiseks järgige kohalikke jäätmekäitluseeskirju ja kemikaali ohutuskardil toodud soovitusi. See kehtib ka kahjustatud analüüsikomplekti sisule.
6. Vabaneege kõigist kasutatud reaktiividest ja muudest saastunud ühekordseks kasutuseks ette nähtud vahenditest nakkusohlike või potentsiaalselt nakkusohlike jätmete käitlemise eeskirjade kohaselt. Iga labor peab ise vedelaid ja tahkeid jäätmekäitluseks 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 jätmise 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 sondi, pleekimisvastane DAPI ES vastandvärv ja hübriidsatsioonilahus säilitavad stabiilsuse normaalse kasutamise ajal esinevate sulatamise ja külmutamise tsüklite kestel (kus üks tsüklil kestab sondi eemaldamisest külmikust kuni sinna tagasipanekuni) – 5 tsüklit 50 µl (5 analüüsi) FISH-i sondi viaali korral, 10 tsüklit 100 µl (10 analüüsi) FISH-i sondi

viaali korral ja 15 tsüklit 150 µl (15 analüüsi) vastandvärvi viaali korral. 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 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 katteklaseid
15. Taimer
16. 37 °C inkubaator
17. Katteklaasi 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%-line 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 apokromaatsset objektiivi 60/63-kordse või 100-kordse suurendusega. Selles sondi kompleksis kasutatud fluorofoorid aktiveeruvad ja emiteerivad järgnevatel lainepikkustel:

Fluorofoor	Eksitatsioon _{max} [nm]	Emissioon _{max} [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 fluorestsentsmikroskoopi jaoks 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/atseetahape) fikseeritud hematoloogiliselt tuletatud rakuuspensioonidega, 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.⁷

Lahuse ettevalmistamine

Etanooli lahused

Lahjendage 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

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 lahus

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 lahus

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

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

Slaidi ettevalmistamine

1. Tilgutage rakuproov mikroskoobi klaasist alusklaasile. Laske kuivada. (Tsütogeneetilise kuivatuskambril kasutamisel võite toimida järgmiselt: Rakuproovi optimaalseks valmistamiseks tuleks kambril kasutada temperatuuril ligikaudu 25 °C ja õhuniiskusel 50%. Kui tsütogeneetiline kuivatuskamber ei ole kättesaadav, kasutage alternatiivina tömbekappi).
2. Kastke slaidid 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. 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 katteklase. Lisage katteklaasi 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 kambris temperatuurile 37 °C (+/- 1 °C), laske seista üleöö.

Hübriidsatsioonijärgsed pesud

12. Eemaldage DAPI külmikust ja laske soojeneda toatemperatuurile.
13. Eemaldage ettevaatlikult katteklaseid 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 katteklaasiga, 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 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 denaturatsioon võib põhjustada signaali puudumist ja üleliigne denaturatsioon võib samuti põhjustada ebaspetsiifilist seondumist.
6. Üleliigne hübriidsatsioon 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

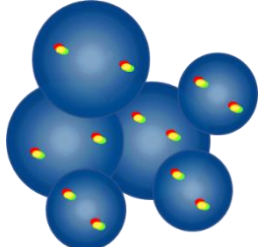
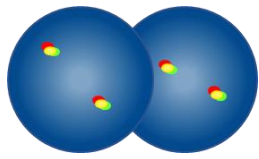
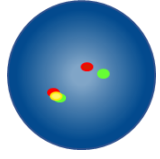
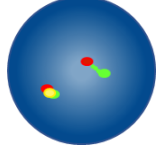
Slaidi kvaliteedi hindamine

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 terviklikud.

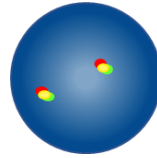
Analüüsi eeskirjad

- 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 terviklikke tuumi, mitte kattuvaid või kokkukleepunud või tsütoplasma jääkidega kaetud ega tugevasti autofluorestsenteerivaid tuumi.
- Vältige alasid, kus esineb liigseid tsütoplasma jääke või ebaspetsiifilist hübriidisatsiooni.
- Signaali tugevus võib vahelduda, isegi ühe tuuma piires. Sellistel juhtudel kasutage üksikfiltrid ja/või kohandage fokaalatasandit.
- 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 kahevärvilise lahutatavate sondide analüüsimisel ei ole punase ja rohelise signaali 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 tuuma kõik alasid ei ole näha
	Lugeda kahe fusioonisignaalina, kui punase ja rohelise signaali vaheline tühimik on kahest signaalipikkusest väiksem
	Lugeda kahe fusioonisignaalina, kui üks fusioonisignaali on difuusne

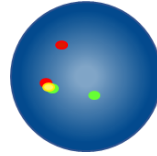
Eeldatavad tulemused

Eeldatav normaalne signaalimuster



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

Eeldatavad ebanormaalsed signaalimustrid



Tasakaalustatud *CBFB* ümberkorraldusega rakus on eeldatav signaalimuster üks punane, üks roheline/punane, üks punane ja üks roheline fusioonisignaali (1F1P1Rohel).

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 leidnud aset tõsine juhtum, tuleb sellest teavitada tootjat ja riiklikku pädevat ametiasutust.

Muudes riikides tuleb tõsistest juhtumitest 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. Analüüsiiti nelja kromosomaalset lookust kõigi viie proovi kõigis kahekümmes metafasi rakus, saades 400 andmepunkti. Iga hübriidiseeritud sondi asukoht kaardistati ja õige lookusega hübriidiseeritud metafasi kromosoomi FISH-i signaalide arv salvestati.

Arvutati komplekti iga sondi analüütilise spetsiifilisuse number, jagades õige lookusega hübriidiseeritud metafasi kromosoomi FISH-i signaalide arvu hübriidiseeritud metafasi kromosoomi FISH-i signaalide koguarvuga, saadud tulemus korrutati 100-ga, väljendati protsendina ja anti 95% usaldusvahemik.

Tabel 1. Sondi *CBFB Breakapart Probe* analüütiline spetsiifilisus

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

Analüütiline tundlikkus

Analüütiline tundlikkus on hinnatavate interfaasi rakkude protsent eeldatava normaalse signaalimustris suhtes. Iga 25 fikseeritud luuüdirakuspensiooni ja proovi korral, mis tunnustati *CBFB* ümberkorralduse suhtes negatiivseks, analüüsiiti vähemalt 200 interfaasi raku, saades tulemuseks vähemalt 5000 tuuma iga proovitüübi kohta. Tundlikkuse andmeid analüüsiiti normaalse eeldatava signaalimustriga rakkude protsendi alusel ja väljendati protsendina 95% usaldusvahemikuga.

Tabel 2. Sondi *CBFB Breakapart Probe* analüütiline tundlikkus

Proovi tüüp	Tundlikkuse kriteeriumid	Tundlikkuse tulemus
Luuüdi	>95%	97,92% (97,59%–98,25%)

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 luuüdirakuspensiooni kohta analüüsiiti vähemalt 200 interfaasi raku, saades tulemuseks vähemalt 5000 tuuma iga proovitüübi kohta.

Väljaarvamise piirväärtus määratleti MS Excelis funktsiooniga β -inverse (BETA.INV). See arvutati valepositiivset signaalimustrit näitavate interfaasi rakkude

DS1028/CE-et v001.00/2023-05-10 (H098 v1)

protsendina, kasutades normaalse patsiendiproovi binominaalse jaotuse ühepoolse 95% usaldusvahemiku ülemist seotust.

Tabel 3. Sondi CFBF Breakapart Probe normaalse väljaarvamise piirväärtuste kirjeldus

Proovi tüüp	Väljaarvamise tulemus
Luuüdi	3,08%

Laborid peavad oma andmete põhjal kinnitama väljaarvamise piirväärtused.^{8,9}

Kordustäpsus

Selle toote kordustäpsus on mõõdetud päevasise kordustäpsusena (prooviprooviga), päevadevahelise kordustäpsusena (päev-päevaga) ja ühe asutuse partiiidevahelise kordustäpsusena (partii-partiiga).

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

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

Tabel 4. Sondi CFBF Breakapart Probe reprodutseeritavus ja kordustäpsus

Muutuja	Proovi tüüp	Ühilduvus
Päevasine (prooviprooviga) 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 deidentifitseeritud hematoloogilisel tuletatud proovidest. Kummagi uuringu valimi suurs oli üks sada kolmteist (113) proovi ja sihtpopulatsioon kaksikümend (20) luuüdi positiivset proovi ja üheksakümend kolm (93) luuüdi negatiivset proovi. Analüüsi mõjutamise vältimiseks kõik proovid anonümiseeriti ja randomiseeriti. Tulemusi võrreldi proovi teadaoleva olekuga. Tulemuste ühilduvuse/ebakõla vastas nende uuringute vastuvõetavuskriteeriumidele.

Nende analüüside tulemusi analüüsiti ühemõõtmelise meetodiga, et selgitada välja positiivsete signaalide kliinilise tundlikkuse, kliinilise spetsiifilisuse ja valepositiivsuse määra (FPR) väärtused.

Tabel 5. Sondi CFBF Breakapart Probe kliiniline toimivus

Muutuja	Tulemus
Kliiniline tundlikkus (true positive rate, TPR) (tõeselt positiivsete määr)*	99,42%
Kliiniline spetsiifilisus (true negative rate, TNR) (tõeselt negatiivsete määr)*	99,84%
Valepositiivsete määr (false positive rate, FPR) = 1 – spetsiifilisus*	0,16%

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: 50558449LPH089K9

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@cytozell.com

Veebisait: www.ogt.com

Viited

- Huret JL. Atlas Genet Cytogenet Oncol Haematol. 1999; 3(3):147-149.
- 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 April 28]. (WHO classification of tumours series, 5th ed.; vol. 11). Available from: <https://tumourclassification.iarc.who.int/chapters/63>
- Hernández JM, et al. Haematologica. 2000; 85(5):481-5.
- Moreno-Mirallas I, et al. J Biol Chem. 2005;280(48):40097-103.
- Grimwade D, et al. Blood. 2010;116(3):354-365.
- Litzow MR. Haematologica. 2020;105(6):1475-77.

- Arsham, MS., Barch, M.J. and Lawce HJ. (eds.) (2017) *The AGT Cytogenetics Laboratory Manual*. New Jersey: John Wiley & Sons Inc.
- Mascarello JT, Hirsch B, Kearney HM, et al. Section E9 of the American College of Medical Genetics technical standards and guidelines: fluorescence in situ hybridization. Genet Med. 2011;13(7):667-675.
- Wiktor AE, Dyke DLV, Stupca PJ, Ketterling RP, Thorland EC, Shearer BM, Fink SR, Stockero KJ, Majorowicz JR, Dewald GW. *Preclinical validation of fluorescence in situ hybridization assays for clinical practice*. Genetics in Medicine. 2006;8(1):16–23.

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 väljanne		
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

Veebisait: www.ogt.com



Sysmex Europe SE

Bornbarch 1
22848 Norderstedt
SAKSAMAA

Tel: +49 40 527260

Veebisait: www.sysmex-europe.com

Kasutusjuhendi versioonialugu

V001.00/2023-05-10 Uus kasutusjuhend kooskõlas määrusega (EL) 2017/746