



A Sysmex Group Company



### Kasutusjuhend

REF: CE-LPH 026-S / CE-LPH 026

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



AINULT ERIALASEKS KASUTAMISEKS



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

### Kasutusotstarve

Sond CytoCell® AML1/ETO (RUNX1/RUNX1T1) Translocation, Dual Fusion Probe on kvalitatiivne, mitteautomaatne, fluorestsents *in situ* hübridisatsiooni (FISH) uuring, mida kasutatakse 21. kromosoomi 21q22.1 piirkonna ja 8. kromosoomi 8q21.3 piirkonna vaheliste kromosomaalsete ümberkorralduste tuvastamiseks Carnoy lahuses (3:1 metanool/atseethape) fikseeritud hematoloogiliselt tuletatud rakususpensioonides, 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 *AML1::ETO (RUNX1::RUNX1T1)* translokatsiooni oleku kohta on kliinilise ravi seisukohalt olulised.

### Piirangud

Seade on loodud tuvastama murdepunktidega ümberkorraldusi sondikomplekti punase ja roheline klooniga kaetud piirkonnas, mis sisaldab *AML1* ja *ETO (RUNX1T1)* 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 analüüsiks, populatsioonipõhiseks skriininguks, patsiendilähedaseks analüüsiks või isendal analüüsiks.

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 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 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* hübridisatsioon (FISH) on meetod DNA järjestuste tuvastamiseks metafaasi kromosoomides või fikseeritud tsütogeneetiliste proovide interfaasi tuumades. Meetod kasutab DNA sonde, mis hübridiseeritakse 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. Fikseeritud ja denatureeritud sihtmärk-DNA on saadaval sarnase denatureeritud, fluorestsentsmarkeriga DNA sondiga paardumiseks, millel on komplementaarne järjestus. Peale hübridiseerimist eemaldatakse seondumata ja ebaspetsiifiliselt seotud DNA sond ning DNA

visualiseeritakse vastandvärvimisega. Seejärel võimaldab fluorestsentsmikroskoopia hübridiseeritud sondi visualiseerimist sihtmärkmaterjalil.

### Sondi teave

*RUNX1 (RUNX perekonna transkriptsioonifaktor 1)* geen asukohas 21q22.1 on sulandunud *RUNX1T1 (RUNX1 partner transkriptsiooniline korepressor 1)* geeniga Ensembl asukohas 8q21.3 translokatsiooni t(8;21)(q21.3;q22.1), mida leitakse kõige sagedamini ägeda müeloidse leukeemia (AML) FAB (Prantsuse-Ameerika-Brit klassifikatsioon) M2 tüübiga patsientidel.

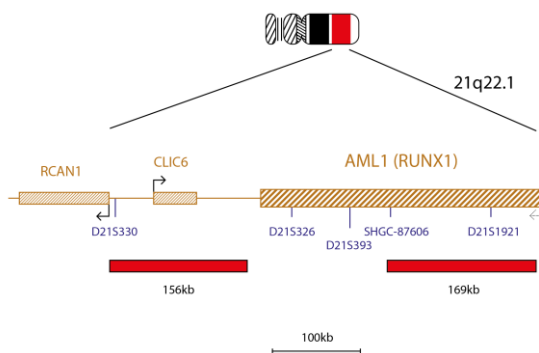
Translokatsiooni t(8;21)(q21.3;q22.1) põhjustatud *RUNX1::RUNX1T1* fusiooniga AML moodustab tunnustatud haigusüksuse vastavalt Maailma Terviseorganisatsiooni (WHO) müeloidsete kasvajat ja ägeda leukeemia klassifikatsioonile<sup>1</sup>. Translokatsiooni on leitud 10–22% AML-i FAB M2 tüübiga patsientidest ja 5–10% kõikidest AML-i juhtudest ning kõige sagedamini lastel ja noortel täiskasvanutel ja tegu on hea prognoosi indikaatoriga<sup>3,4,5</sup>. Translokatsiooni t(8;21) murdepunkt esineb peamiselt 5. ja 6. eksoni vahelises intronis vahetult enne transkriptsiooni domeeni ning tekkinud fusioonivalk sisaldab *RUNX1* DNA-siduvat domeeni, mis on sulandunud transkriptsioonifaktoriga *RUNX1T1*<sup>2</sup>.

Lisaks retsiprooksele t(8;21) translokatsioonile, mis tekitab *RUNX1::RUNX1T1* fusiooni, on samuti leitud variantseid translokatsioone. Need variantsed ümberkorraldused võivad olla krüptilised ja Giemsa värvimisel kergesti märkamatuks jääda, kuid FISH võib selliste ümberkorralduste esinemist näidata<sup>2</sup>.

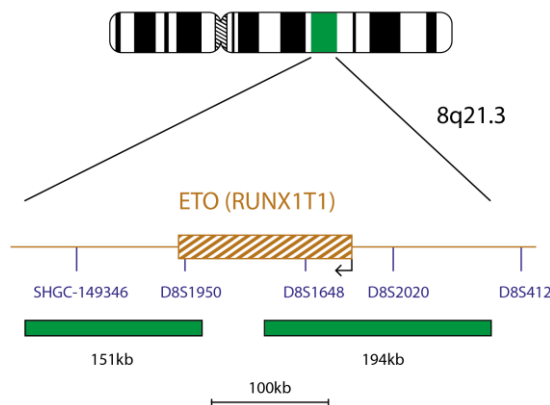
### Sondi spetsifikatsioon

AML1, 21q22.1, punane  
ETO, 8q21.3, roheline

CMP-H004 v006.00



CMP-H005 v005.00



AML1 komponent hõlmab punasega märgistatud 156 kb sondi, mis on *AML1 (RUNX1)* geeni suhtes tsentromeerne ja ulatub üle *CLIC6* geeni, ja 169 kb sondi, mis katab osa *AML1 (RUNX1)* geenist, sealhulgas markereid SHGC-87606 ja D21S1921. ETO (*RUNX1T1*) komponent hõlmab roheline märgistatud 151 kb sondi, mis katab geeni tsentromeerset osa ja piirnevad piirkonda, ja 194 kb sondi, mis katab geeni telomeerset osa ja piirnevad piirkonda.

### Tarnitavad materjalid

**Sond:** 50 µl viali kohta (5 analüüsi) või 100 µl viali kohta (10 analüüsi)  
Sondid tarnitakse hübridiseerimislahusega 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) glütserooli põhises kinnituskeskonnas).

### Hoiatused ja ettevaatusabinõud

1. Kasutamiseks *in vitro* diagnostikas. Ette nähtud vaid erialaseks laboratoorseks kasutamiseks.

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

Lk 1/5

- Sondi segud sisaldavad formamiidi, mis on teratogeenne; ärge hingake sisse auru ning vältige kontakti nahaga. Käsitsege ettevaatlikult; kasutage kindaid ja laborikilti.
- Käsitsege DAPI-t ettevaatlikult; kasutage kindaid ja laborikilti.
- Ärge kasutage, kui vial(id) on kahjustatud või kui vialisi sisu on mistahes viisil rikutud.
- Tootejäätmete ohutuks käitlemiseks järgige kohalikke jäätmekäitluseeskirju ja kemikaali ohutuskaardil toodud soovitusi. See kehtib ka kahjustatud analüüsikomplekti sisule.
- 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 jäätmekäitluseks ette nähtud vahendite kasutamiseks (või laskma need käteldada ja kõrvaldada) vastavalt kehtivatele eeskirjadele.
- Kasutajad peavad olema suutelised eristama punast, sinist ja rohelist värvi.
- Esitatud protokollid ja reaktiivide järgimata jätmise võib mõjutada analüüsi toimivust ja põhjustada valepositiivseid/valenegatiivseid tulemusi.
- Sondi ei tohiks lahjendada ega segada teiste sondidega.
- Kui denatureerimise eeleptis ei kasutata 10 µl sondi, nagu on protokollis ette nähtud, siis võib see mõjutada analüüsi toimivust ja põhjustada valepositiivseid/valenegatiivseid tulemusi.
- Kõiki tooteid tuleb enne kasutamist valideerida.
- Sisemised kontrollid tuleb läbi viia kontrollproovidega, mis sisaldavad mõjutamata rakupopulatsioone.

#### Temperatuuri määralused

- 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 vialale tuleb säilitada pimedas.



FISH-i sond, pleekimisvastane DAPI ES vastandvärv ja hübridiseerimislahus 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 viala puhul, 10 tsüklit 100 µl (10 analüüsi) FISH-i sondi viala puhul ja 15 tsüklit 150 µl (15 analüüsi) vastandvärvi viala 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.

- Kuumutusplaat (täisplaadi ja täpse temperatuuriregulaatoriga kuni 80 °C)
- Kalibreeritud erineva mahuga mikropipetid ja otsikud vahemikus 1–200 µl
- Vesivann, täpse temperatuuriregulaatoriga 37 °C ja 72 °C juures
- Mikrotsentrifuugi katsutid (0,5 ml)
- Florestsentsmikroskoop (vt lõiku Florestsentsmikroskoobi soovitusel)
- Faasikontrastmikroskoop
- Läbipaistvast plastist, keraamilisest või kuumakindlast klaasist Coplini anumad
- Pintsetid
- Kalibreeritud pH-meeter (või pH indikaatorribad vahemikus pH 6,5–8,0)
- Niiskuskamber
- Florestsentsmikroskoobi immersioonõli
- Lauatsentrifuug
- Mikroskoobi alusklaasid
- 24x24 mm katteklaidid
- Taimer
- 37 °C inkubaator
- Katteklaasi liim
- Vortex-segisti
- Gradueeritud silindrid
- Magnetsegisti
- Kalibreeritud termomeeter

#### Valikulised seadmed, mida ei tarnita

- Tsütogeneetiline kuivatuskamber

#### Vajalikud reaktiivid, mida ei tarnita

- 20-kordne naatriumtsitraadi soolalahus (SSC)
- 100%-line etanool
- Tween-20
- 1M naatriumhüdroksiid (NaOH)
- 1M vesinikloriid (HCl)
- Destilleeritud vesi

#### Florestsentsmikroskoobi soovitusel

Kasutage optimaalseks visualiseerimiseks 100-vatist elavhõbelampi või sellega samaväärset ning immersioonõliga apokromaatset 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 samaaegseks 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 lahusega (3:1 metanool/atseethape) fikseeritud hematoloogiliselt tuletatud rakususpensioonides, mis pärinevad kinnitatud või kahtlustatud ägeda müeloidse leukeemia (AML) patsientidelt, ja 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>6</sup>.

#### 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 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).

#### Slaidi ettevalmistamine

- 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).
- Kastke slaidid toatemperatuuril 2 minutiks 2-kordsesse SSC lahusesse ilma segamata.
- Dehüdrateerige etanoolilahuste seerias (70%, 85% ja 100%), igas 2 minutit toatemperatuuril.
- Laske kuivada.

#### Enne denaturatsiooni

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

#### Denaturatsioon

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

#### Hübridisatsioon

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

#### Hübridisatsioonijärgsed pesud

- Eemaldage DAPI külmikust ja laske soojeneda toatemperatuurile.
- Eemaldage ettevaatlikult katteklaidid ja kõik liimijäljed.

- Kastke slaidid 2 minutiks ilma segamata 0,4-kordsesse SSC lahusesse (pH 7,0) temperatuuril 72 °C (+/-1 °C).
- Kuivatage slaidi ja kastke see 30 sekundiks ilma segamata 2-kordsesse SSC lahusesse, 0,05% Tween-20 lahusesse, toatemperatuuril (pH 7,0).
- Kuivatage slaidi ja lisage igale proovile 10 µl pleekimisvastast DAPI-d.
- Katke katteklasaiga, eemaldage mullid ja laske värvil pimedas kujuneda 10 minutit.
- Vaadake fluorestsentsmikroskoobiga (vt **Fluorestsentsmikroskoobi soovitus**).

#### Protseduuri soovitus

- Slaidide keetmine või aegumine võib fluorestsentssignaali nõrgendada.
- Cytocell Ltd poolt toodetud või soovitatud reaktiivide asemel muude reaktiivide kasutamine võib ebasoodsalt mõjutada hübriidiseerimistingimusi.
- Kasutage lahuste, vesivannide ja inkubaatorite temperatuuri mõõtmisel kalibreeritud termomeetrit, sest need temperatuurid on toote optimaalseks toimimiseks kriitilise tähtsusega.
- Pesukontsentratsioonid, pH ja temperatuurid on olulised, kuna vähene rangus võib põhjustada sondi ebaspetsiifilist sidumist ja liiga suur rangus võib põhjustada signaali puudumist.
- Mittetäielik denatureerimine võib põhjustada signaali puudumist ja üleliigne denatureerimine võib samuti põhjustada ebaspetsiifilist seondumist.
- Üleliigne hübriidiseerimine võib põhjustada täiendavaid või ootamatuid signaale.
- Kasutajad peaksid enne analüüsi kasutamist diagnostilisel eesmärgil protokoll oma proovidega optimeerima.
- Suboptimaalsed tingimused võivad põhjustada ebaspetsiifilist seondumist, mida võidakse ekslikult sondi signaalina tõlgendada.

#### Tulemuste tõlgendamine

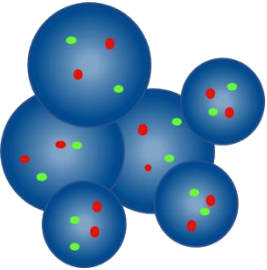
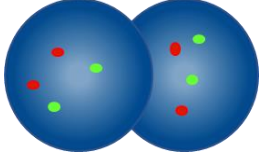
##### Slaidi kvaliteedi hindamine

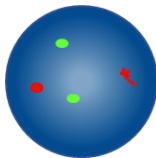
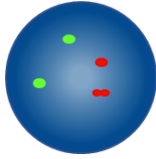
Slaidi ei tohiks analüüsida, kui

- 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

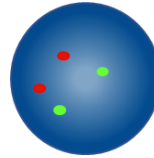
- Igat proovi peaks analüüsima ja tõlgendama kaks analüütikut. Kõik lahknemused tuleks lahendada kolmanda analüütiku hinnanguga.
- Analüütikud peaksid olema riiklikult tunnustatud standardite kohase väljaõppega.
- Iga analüütik peaks hindama eraldi 100 tuuma iga proovi kohta. Esimene analüütik peaks alustama slaidi vasakult küljelt ja teine analüütik paremalt küljelt.
- Iga analüütik peaks oma tulemused üles märkima eraldi andmekandjale.
- Analüüsi tuleks teha teravilise tuumi, mitte kattuvaid või kokkukleepunud või tsütoplasma jääkidega kaetud ega autofluorestsentseeritud tuumi.
- Vältige alasid, kus esineb liigseid tsütoplasma jääke või ebaspetsiifilist hübriidiseerimist.
- 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 signaale ühendab ähmane niit, lugege signaalid üheks.
- Kui kahtlete, kas proov on analüüsiks 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 alasid ei ole näha

	Lugeda kahe punase signaalina ja kahe rohelise signaalina, kui üks kahest punasest signaalist on difuusne
	Lugeda kahe punase signaalina ja kahe rohelise signaalina, kui ühe punase signaali tühimik on kahest signaalipikkusest väiksem

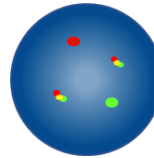
#### Eeldatavad tulemused

##### Eeldatav normaalne signaalimuster



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

##### Eeldatav ebanormaalne signaalimuster



Translokatsiooniga t(8;21)(q21.3;q22.12) 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* 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 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 vaid õige lookusega hübriidiseeritud signaalide protsentarv. Analüütiline spetsiifilisus saavutati kokku 400 sihtmärk-lookuse analüüsimisel. Analüüsi kaht kromosomaalset lookust 5 proovi kõigis 20-s metafaasi rakus, saades 400 andmepunkti. Analüütiline spetsiifilisus arvutati, jagades õige lookusega hübriidiseeritud FISH-i signaalide arvu kogu hübriidiseeritud FISH-i signaali arvuga.

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/ETO (RUNX1/RUNX1T1) Translocation, Dual Fusion Probe analüütiline spetsiifilisus

Sond	Sihtmärk	Hübriidiseeritud metafaasi kromosoomide arv	Õigesti hübriidiseeritud lookuste arv	Analüütiline spetsiifilisus (%)	95% usaldusvahemik (%)
AML1, punane	21q22.1	200	200	100	98,12–100
ETO, roheline	8q21.3	200	200	100	98,12–100

#### Analüütiline tundlikkus

Analüütiline tundlikkus on hinnatavate interfaasi rakkude protsent eeldatava normaalse signaalimustris suhtes. Iga 25 kariotüüpiliselt normaalse Carnoy lahuses

fikseeritud luuüdirakuspensiooni kohta analüüsiti vähemalt 200 interfaasi raku, saades tulemuseks vähemalt 5000 tuuma iga proovituubi kohta. Tundiikkuse andmeid analüüsiti normaalse eeldatava signaalimustriga rakkude protsendi alusel ja väljendati protsendina 95% usaldusvahemikuga.

**Tabel 2. Sondi AML1/ETO (RUNX1/RUNX1T1) Translocation, Dual Fusion Probe analüütiline tundlikkus**

Eeldatava signaalimustriga rakkude arv	Hinnatava signaaliga rakkude koguarv	Analüütiline tundlikkus (%)	95% usaldusvahemik (%)
4965	5000	99,3	99,02, 99,58

#### Normaalse väljaarvamise piirväärtuste kirjeldus

FISH-i sondidega seotud normaalse väljaarvamise piirväärtus on hinnatavate, teatud ebanormaalse signaalimustriga interfaasi rakkude suurim protsent, mille juures proov hinnatakse normaalseks.

Normaalne väljaarvamise piirväärtus määrati proovidega, mis olid negatiivsed ümberkorralduse suhtes, mida sond peaks tuvastama, ja beeta-pöördfunktsiooniga. Iga proovi kohta salvestati 100 interfaasi raku signaalimustrid kahe sõltumatu analüütiku poolt, kokku 200 proovi 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/ETO (RUNX1/RUNX1T1) Translocation, Dual Fusion Probe normaalse väljaarvamise piirväärtuste kirjeldus**

Ebanormaalne signaalimuster	Väljaarvamise piirväärtuse loomiseks analüüsitud proovide arv	Proovi kohta hinnatud tuumade arv	Max valepositiivsete signaalimustrite arv	Normaalne väljaarvamise piirväärtus (%)
1P1R2F	1290	200	1	2,3

Laborid peavad oma andmete põhjal väljaarvamise piirväärtused kinnitama<sup>7,8</sup>.

#### Reproduktseeritavus

Tehti järgmised reproduktseeritavuse uuringud:

- 3 uuringukoha päevasisene reproduktseeritavus (proov-prooviga)
- 3 uuringukoha päevadevaheline reproduktseeritavus (päev-päevaga)
- 3 uuringukoha uuringukohtadevaheline reproduktseeritavus (uuringuoht-uuringukohaga)
- ühe uuringukoha partiidevaheline reproduktseeritavus (partii-partiiga)

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

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

Reproduktseeritavus arvutati, kasutades katse ajal uuritud muutujate vahelist ühilduvust.

**Tabel 4. Sondi AML1/ETO (RUNX1/RUNX1T1) Translocation, Dual Fusion Probe reproduktseeritavus**

Uuring	Kriteeriumid	Tulemus
Päevasisene/päevadevaheline/ uuringuohtadevaheline	90% negatiivse klassi ühilduvus	100%
	95% tugevalt positiivse klassi ühilduvus	100%
Partiidevaheline	90% negatiivse klassi ühilduvus	100%
	95% tugevalt positiivse klassi ühilduvus	100%

#### Kliiniline toimivus

Tagamaks, et sond AML1/ETO (RUNX1/RUNX1T1) Translocation Dual Fusion Probe tuvastab ettenähtud ümberkorraldused, tehti toote kliiniline toimivus kindlaks toote sihtpopulatsiooni esindusproove hõlmava viie uuringuga: 3:1 metanooli/atseetaphega fikseeritud jääkmaterjal. Uuringute kombineeritud proovide hulk oli kuussada kolmkümmend neli (634), millest kokku kolmkümmend viis (35) proovi olid positiivsed ja kokku viissada üheksakümmend üheksa (599) proovi olid negatiivsed kõigi uuringukohtade peale kokku. 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 AML1/ETO (RUNX1/RUNX1T1) Translocation, Dual Fusion Probe kliiniline toimivus**

Muutuja	Tulemus
Kliiniline tundlikkus (true positive rate, TPR) (tõeselt positiivsete määr)*	99,74%
Kliiniline spetsiifilisus (true negative rate, TNR) (tõeselt negatiivsete määr)*	99,90%
Valepositiivsete määr (false positive rate, FPR) = 1–spetsiifilisus*	0,10%

#### 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: 50558449LPH026JH

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

#### Viited

1. Swerdlow, *et al.* (toim.) 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, M.J. ja Lawce H.J. (toim.) (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, Stocker 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” (© 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: In vitro 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)
CONT	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@cytoCell.com](mailto:probes@cytoCell.com)

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



#### Systemex Europe SE

Bornbarch 1  
22848 Norderstedt  
SAKSAMAA

Tel: +49 40 527260

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

#### Kasutusjuhendi versioonialugu

V001.00 2023-01-11: Uus kasutusjuhend kooskõlas määrusega (EL) 2017/746.