



A Sysmex Group Company



Kasutusjuhend

REF: CE-LPH 039-S / CE-LPH 039

CKS1B/CDKN2C (P18) Amplification/Deletion Probe



AINULT ERIALASEKS KASUTAMISEKS



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

Kasutusotstarve

Sond CytoCell® CKS1B/CDKN2C (P18) Amplification/Deletion Probe on kvalitatiivne, mitteautomaatne, fluorestsents *in situ* hübriidsatsiooni (FISH) uuring, mida kasutatakse 1. kromosoomi 1p32.3 ja 1q21 piirkondade kromosomaalsete lisade ja deletsioonide tuvastamiseks Carnoy lahuses (3:1 metanool/atseethape) fikseeritud hematoloogilisel tuletatud rakususpensioonides, mis pärinevad kinnitatud või kahtlustatud hulgmüeloomiga (MM) patsientidelt.

Näidustused

See seade on loodud täiendusena teistele kliinilistele ja histopatoloogilistele uuringutele tunnustatud diagnostilistes ja kliinilistes raviteedes, kus teadmised CKS1B või CDKN2C (P18) oleku kohta on kliinilise ravi seisukohalt olulised.

Piirangud

Seade on loodud tuvastama genoomilisi lisasid või kadusid, mis on suuremad kui sondikomplekti punase või rohelise klooniga kaetud piirkond, mis sisaldab piirkondi CKS1B ja CDKN2C (P18). Piirkonnast välja poole jäävaid genoomilisi lisasid või kadusid või piirkonna osalisi lisasid või kadusid 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. Seda seadet ei ole valideeritud kasutamiseks muude proovituüpide 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 jätmise võib mõjutada analüüsi toimivust ja põhjustada valepositiivseid/negatiivseid tulemusi.

Analüüsi põhimõte

Fluorestsents *in situ* hübriidsatsiooni (FISH) on meetod DNA järjestuste tuvastamiseks metafaasi kromosoomides või fikseeritud tsütogeneetiliste proovide interfaasi tuumades. Meetod kasutab DNA sonde, mis hübriidiseeritakse 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 hübriidiseerimist eemaldatakse seondumata ja ebaspetsiifiliselt seotud DNA sond ning DNA visualiseeritakse vastandvärvimisega. Seejärel võimaldab fluorestsentsmikroskoopia hübriidiseeritud sondi visualiseerimist sihtmärkmaterjalil.

Sondi teave

CKS1B (CDC28 proteiinkinaasi regulatoorne alamühik 1B) geen on asukohas 1q21 ja CDKN2C (tsükliinist sõltuv kinaasi inhibiitor 2C) geen on asukohas 1p32.3.

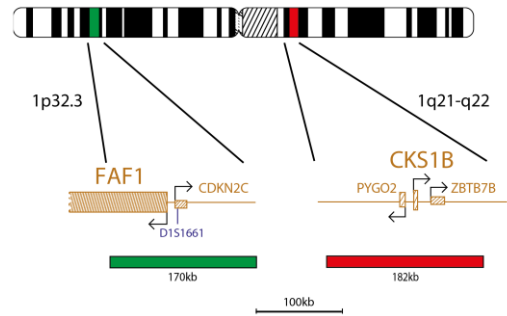
1q21 piirkonna lisa, mis sisaldab CKS1B, on üks kõige sagedamini esinevatest kromosomaalsetest aberratsioonidest hulgmüeloomi puhul¹. CKS1B geeni üleekspressioon reguleerib rakutsükli progressiooni üles, mis põhjustab proliferatiivsema haiguse². See on seotud hulgmüeloomi edasiarenenud fenotüübiga, mistõttu võib seda seostada halva prognoosi ja haiguse progressiooniga^{1,2,3}. 1q21 lisa on seostatud halvema elulemusega ja haiguse relapsi korral on leitud täiendavat amplifikatsiooni. 1. kromosoomi pika öla täielikud lisad esinevad samuti sageli hulgmüeloomi korral ja võivad esineda isokromosoomidena, duplikatsioonide või hüppamistranslokatsioonidena ning neid seostatakse sageli haiguse progressiooniga⁴.

CDKN2C on tuumorsupressorgeen, mis vastutab apoptootilise rakusurma indutseerimise ja DNA fragmenteerimise eest⁵. See on ülesreguleeritud tsütokiini IL-6 ekspressiooniga hulgmüeloomi korral ja geeni homosügootset deletsiooni seostatakse proliferatiivsema haigusega⁵. Kuigi on teatatud, et CDKN2C deletsioonid on inimese pahaloomuliste protsesside korral harvaesinevad, on tsütogeneetiliste analüüsidega näidatud, et 1p32–36 kõrvalekaldeid esineb ligikaudu 16% inimese hulgmüeloomi juhtudest ja need on seotud negatiivsema üldise elulemusega^{2,3,5,6}.

Tsütogeneetilisi kõrvalekaldeid leitakse tavapärase tsütogeneetiliste meetoditega ligikaudu ühel kolmandikul hulgmüeloomi juhtudest, kuid FISH suurendab tuvastatud kromosomaalsete kõrvalekallete osakaalu > 90%⁷.

Sondi spetsifikatsioon

CKS1B, 1q21–q22, punane
CDKN2C (P18), 1p32.3, roheline



CKS1B/CDKN2C toode sisaldab 182 kb kogu CKS1B geeni ja piirnevaid piirkondi, sh PYGO2 ja ZBTB7B geene hõlmavat punasega märgistatud sondi ja rohelist sondi, mis hõlmab 170 kb piirkonda, mis sisaldab kogu CDKN2C geeni, markerit D1S1661 ja FAF1 geeni tsentromeerset otsa.

Tarnitavad materjalid

Sond: 50 µl viali kohta (5 analüüsi) või 100 µl viali kohta (10 analüüsi)
Sondi tarnitakse hübriidiseerimislahusega 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-fenüüldool) glütserooli põhises 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. Tootejäätmete 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 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 jätmise 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.

- Kõiki tooteid tuleb enne kasutamist valideerida.
- 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 hübriidiseerimislahus 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 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 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)
- Florestsensmikroskoop (vt lõiku Florestsensmikroskoobi soovitusel)
- Faasikontrastmikroskoop
- Läbipaistvast plastist, keraamilised või kuumakindlast klaasist Coplini anumad
- Pintsetid
- Kalibreeritud pH-meeter (või pH indikaatorribad vahemikus pH 6,5–8,0)
- Niiskuskamber
- Florestsensmikroskoobi immersioonõli
- Lauatsentrifuug
- Mikroskoobi alusklaasid
- 24x24 mm katteklasaadid
- 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

Florestsensmikroskoobi soovitusel

Kasutage optimaalseks visualiseerimiseks 100-vatist elavhõbelampi või sellega samaväärset ning immersioonõliga apokromaatselt objektiiv 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 florestsensmikroskoopi, et veenduda selle korrasolekus. Kasutage immersioonõli, mis on florestsensmikroskoopiaks sobiv ja on madala autoflorestsensiga. 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 rakuspensioonidega, 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 kohta⁸.

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 lahused kuni 6 kuud toatemperatuuril õhukindlas nõus.

2-kordne SSC lahuse

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 lahuse

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 lahuse

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 lahuse 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 katteklasaad. Lisage katteklasaadi liim ja laske liimil täielikult kuivada.

Denaturatsioon

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

Hübriidatsioon

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

Hübriidatsioonijärgsed pesud

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

Protseduuri soovitusel

- Slaidide keetmine või aegumine võib florestsenssignaali 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.

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 hübriidiseerimine 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

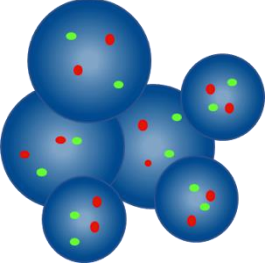
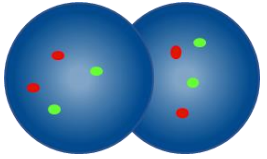
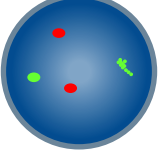
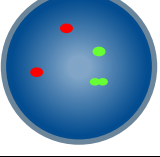
Slaidi kvaliteedi hindamine

Slaidi ei tohiks analüüsida, kui

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

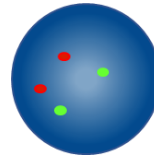
Analüüsi eeskirjad

- Igat proovi peaks analüüsima ja tõlgendama kaks analüütikut. Kõik lahnevused 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 teravilise tuumi, mitte kattuvaid või kokkuleepunud või tsütöplasma jääkidega kaetud ega autofluorestsereivaid 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 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 kahevärviliste lahutatavate sondide analüüsimisel ei ole punase ja rohelise 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 kontrollsignaalina, kui üks kahest punasest signaalist on difuusne
	Lugeda kahe kontrollsignaalina, kui ühe rohelise signaali tühimik on kahest signaalipikkusest väiksem

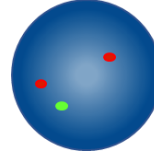
Eeldatavad tulemused

Eeldatav normaalne signaalimuster

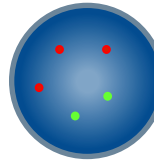


Normaalse raku eeldatav tulemus on kaks punast ja kaks rohelist signaali (2P2R).

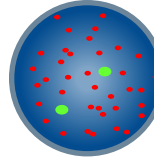
Eeldatavad ebanormaalsed signaalimustrid



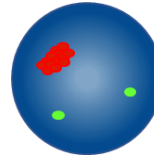
1p32.3 deletsiooniga rakus on eeldatav signaalimuster kaks punast ja ühe roheline signaal (2P1R).



1q21 lookuse lisaga raku eeldatav signaalimuster on kaks rohelist ja kolm või enam punast signaali (3+P2R).



1q21 lookuse amplifikatsiooniga rakus on sel puhul kogu tsütöplasmast näha palju väikseid punaseid signaale koos kahe rohelise kontrollsignaaliga (ampP2R).



Homogeenselt värvuvat piirkonda põhjustava 1q21 lookuse amplifikatsiooniga rakus on näha palju punaseid signaale mööda pikenenud ja laienedud kromosomaalset segmendi koos kahe rohelise kontrollsignaaliga (ampP2R).

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

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 nelja kromosomaalset lookust viie proovi kõigis 20-s 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

DS547/CE-et v001.00/2023-01-11 (H013 v3)

Lk 3/5

hübridiseeritud metafaasi kromosoomi FISH-i signaalide koguarvuga, saadud tulemus korrutati 100-ga, väljendati protsendina ja anti 95% usaldusvahemik.

Tabel 1. Sondi CKS1B/CDKN2C (P18) Amplification/Deletion Probe analüütiline spetsiifilisus

Sihimärk	Hübridiseeritud metafaasi kromosoomide arv	Õigesti hübridiseeritud lookuste arv	Analüütiline spetsiifilisus	95% usaldusvahemik
1q21	200	200	100%	98,12–100%
1p32.3	200	200	100%	98,12–100%

Analüütiline tundlikkus

Analüütiline tundlikkus on hinnatavate interfaasi rakkude protsent eeldatava normaalse signaalimustri suhtes. Iga 25 fikseeritud luuüdirakuspensiooni ja 25 fikseeritud CD138+ plasmarakkude suspensiooni kohta, mis tunnistati CKS1B lisa/amplifikatsiooni või CDKN2C deletsiooni suhtes negatiivseks, analüüsiti vähemalt 100 interfaasi raku, saades tulemuseks vähemalt 2500 tuuma iga proovituubi kohta. Tundlikkuse andmeid analüüsiti normaalse eeldatava signaalimustriga rakkude protsendi alusel ja väljendati protsendina 95% usaldusvahemikuga.

Tabel 2. Sondi CKS1B/CDKN2C (P18) Amplification/Deletion Probe analüütiline tundlikkus

Proovi tüüp	Tundlikkuse kriteeriumid	Tundlikkuse tulemus
Luuüdi	>95%	98,68% (97,87–99,49%)
CD138+	>95%	95,95% (94,96–96,94%)

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 ja 25 fikseeritud CD138+ suspensiooni kohta, mis tunnistati CKS1B lisa/amplifikatsiooni või CDKN2C deletsiooni suhtes negatiivseks, analüüsiti vähemalt 100 interfaasi raku, saades tulemuseks vähemalt 2500 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. Sondi CKS1B/CDKN2C (P18) Amplification/Deletion Probe normaalse väljaarvamise piirväärtuste kirjeldus

Proovi tüüp	Väljaarvamise tulemus 3P2R	Väljaarvamise tulemus 2P1R
Luuüdi	5,93%	5,71%
CD138+	9,24%	10,21%

Laborid peavad oma andmete põhjal väljaarvamise piirväärtused kinnitama^{9,10}.

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 kolme (3) proovi: 1 normaalne CD138+ proov, 1 CD138+ nõrgalt positiivne 2P1R (-CDKN2C) suhtes ja 1 CD138+ nõrgalt positiivne 3P2R (+CKS1B) suhtes. Nõrgalt positiivsed CD138+ proovid konstrueeriti negatiivsete CD138+ proovide osast, mida vääridati teadaoleva positiivse CD138+ prooviga, eesmärgiga luua nõrgalt positiivsed proovid 2–4-kordses väljaarvamise vahemikus, mida kasutati toote testimisel kindlaks tehtud väljaarvamise kontrollimisel.

Päevadevahelise ja päevasise täpsuse kindlaks tegemiseks hinnati proove 10-l mittejärjestiksel päeval ning partii-partiiga täpsuse kindlaks tegemiseks hinnati toote 3-e partiid sama proovi 3-e replikaadiga. Tulemused esitati üldise ühilduvusena prognoositud negatiivse klassiga (negatiivsete proovide korral).

Tabel 4. Sondi CKS1B/CDKN2C (P18) Amplification/Deletion Probe reprodutseeritavus ja täpsus

Muutuja	Proovi tüüp	Ühilduvus
Päevasine ja päevadevaheline täpsus	Normaalne CD138+ (negatiivne)	100%
	CD138+ nõrgalt positiivne 2P1R (-CDKN2C)	100%
	CD138+ nõrgalt positiivne 3P2R (+CKS1B)	100%

Partii-partiiga täpsus	Normaalne CD138+ (negatiivne)	100%
	CD138+ nõrgalt positiivne 2P1R (-CDKN2C)	100%
	CD138+ nõrgalt positiivne 3P2R (+CKS1B)	100%

Kliiniline toimivus

Tagamaks, et toode tuvastab ettenähtud ümberkorraldused, tehti toote kliiniline toimivus kindlaks toote sihtpopulatsiooni esindusproove hõlmava 1 uuringuga, milles kasutati metanooli/atseethappega fikseeritud hematoloogiliselt tuletatud jääkproove. Uuringu proovide hulk oli 23 proovi, sihtpopulatsiooniga 10 CKS1B amplifikatsiooni või CDKN2C deletsiooni suhtes negatiivset proovi ja 13 CKS1B amplifikatsiooni või CDKN2C deletsiooni suhtes negatiivset proovi. Analüüsi mõjutamise vältimiseks kõik proovid anonümiseeriti ja randomiseeriti. Tulemusi võrreldi proovi teadaoleva olekuga. Sond tuvastas kõigil juhtudel proovi oleku õigesti.

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

Tabel 5. Sondi CKS1B/CDKN2C (P18) Amplification/Deletion Probe kliiniline toimivus, CKS1B amplifikatsiooni tulemused

Muutuja	Tulemus
Kliiniline tundlikkus (true positive rate, TPR) (tõeselt positiivsete määr)	98,71%
Kliiniline spetsiifilisus (true negative rate, TNR) (tõeselt negatiivsete määr)	99,75%
Valepositiivsete määr (false positive rate, FPR) = 1–spetsiifilisus	0,25%

Tabel 6. Sondi CKS1B/CDKN2C (P18) Amplification/Deletion Probe kliiniline toimivus, CDKN2C deletsiooni tulemused

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

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: 50558449LPH039JS

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


Lisateave














Lisateavet saate kontakteerudes ettevõtte CytoCell tehnilise toe osakonnaga. Tel: +44 (0)1223 294048 E-post: techsupport@cytoCELL.com Veebisait: www.ogt.com

Viited

- Hanamura I, Blood 2006;108(5):1724-32
- Fonseca *et al.*, Leukemia 2009;23(12):2210-2221
- Sawyer, Cancer Genetics 2011;204(1):3-12
- Fonseca *et al.*, Leukemia 2006;20(11):2034-40
- Leone *et al.*, Clin Cancer Res 2008;14(19):6033-41
- Kulkarni *et al.*, Leukemia 2002;16:127-34
- Swerdlow *et al.*, (eds.) WHO Classification of Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissue, Lyon, France, 4th edition, IARC,2017
- 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 ⁹ (© 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
 ogt.com/IFU	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: 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
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 2023-01-11: Uus kasutusjuhend kooskõlas määrusega (EL) 2017/746.