



A Sysmex Group Company



Kasutusjuhend

REF: CE-LPH 038-S / CE-LPH 038

BCR/ABL (ABL1) Plus Translocation, Dual Fusion Probe



AINULT ERIALASEKS KASUTAMISEKS



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

Kasutusotstarve

Sond CytoCell® BCR/ABL (ABL1) Plus Translocation, Dual Fusion Probe on kvalitatiivne, mitteautomaatne, fluorestsents *in situ* hübridisatsiooni (FISH) analüüs, mida kasutatakse 9. kromosoomi 9q34.1 piirkonna ja 22. kromosoomi 22q11.2 piirkonna vaheliste kromosomaalsete ümberkorralduste (9. kromosoomi ASS1 piirkonna kaasnevate deletsioonidega 9q34.1-l või ilma) tuvastamiseks Carnoy lahuses (3:1 metanool/atseethape) fikseeritud hematoloogiliselt tuletatud rakuspensioonides, mis pärinevad kinnitatud või kahtlustatud kroonilise müeloidse leukeemia (CML), ägeda müeloidse leukeemia (AML) või ägeda lümfoblastse leukeemiaga (ALL) patsientidelt.

Näidustused

See seade on loodud täiendusena muudele kliinilistele ja histopatoloogilistele analüüsidele tunnustatud diagnostilistes ja kliinilistes raviteedes, milles teadmised BCR::ABL1 translokatsiooni oleku ASS1 ja deletsiooni oleku kohta on kliinilise ravi seisukohalt olulised.

Piirangud

Seade on loodud tuvastama murdepunktidega ümberkorraldusi selle sondikomplekti punase ja rohelise klooniga kaetud piirkonnas või deletsioone rohekassinate kloonidega kaetud piirkondades, mis hõlmavad ABL1, BCR ja ASS1 piirkondi. Piirkonnast väljajäävaid murdepunkte, alternatiivseid ümberkorralduste variante, mis jäävad täielikult selle piirkonna sisse, või osalisi piirkonna kadusid ei pruugi saada 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 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* 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 esmatahtsa uuringu tööriistana. Fikseeritud ja denatureeritud sihtmärk-DNA on saadaval sarnase denatureeritud, fluorestsentsmarkeriga DNA sondiga

paardumiseks, millel on komplementaarne järjestus. Peale hübridisatsiooni eemaldatakse seondumata ja ebaspetsiifiliselt seotud DNA sond ning DNA visualiseeritakse vastandvärvimisega. Seejärel võimaldab fluorestsentsmikroskoopia hübridiseeritud sondi visualiseerimist sihtmärkmaterjalil.

Sondi teave

BCR (RhoGEF-i ja GTPaasi BCR-aktivaator) geeni asukoht on 22q11.2 ja ABL1 (ABL proto-onkogeeni 1, mitteretseptori türosiini kinaas) geeni asukoht on 9q34.1 ja ASS1 (arginiinsuktsinaadi süntaas 1) geeni asukoht on 9q34.1. BCR ja ABL1 vahelise translokatsiooni tõttu tekib fusioongeen BCR::ABL1. BCR::ABL1 fusiooni esinemisel on tähtis diagnostiline ja prognoostiline tähtsus mitmete hematoloogiliste häirete korral.

Translokatsioon t(9;22)(q34.1;q11.2) on kroonilise müeloidse leukeemia (CML) tunnus ja seda esineb 90–95% juhtudest.¹ Ülejäänud juhtudel on translokatsiooni variatsioon või krüptiline ümberkorraldus 9q34.1 ja 22q11.2 vahel mida ei saa tuvastada rutiinse tsütogeneetilise analüüsiga.¹ BCR::ABL1 fusioone võib leida ka 25% ägeda lümfoblastse leukeemiaga (ALL) täiskasvanutel ja 2–4% ALL-iga lastel.¹ Seda ümberkorraldust esineb harva ka ägeda müeloidse leukeemiaga (AML).²

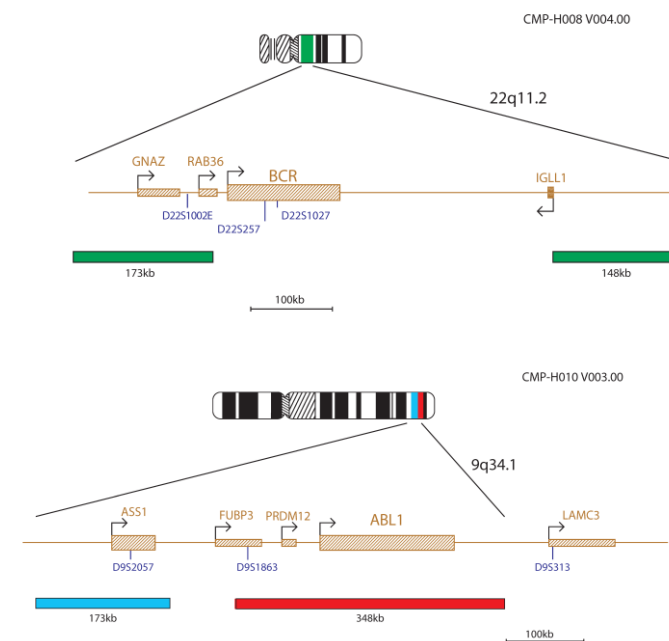
9. ja 22. kromosoomi vahelise translokatsiooniga võib kaasnedes derivaatse 9. kromosoomi proksimaalsete järjestuste kadu, sh piirkond ASS1 (arginiinsuktsinaadi süntaas 1).³

Sondi spetsifikatsioonid

ASS1, 9q34.1, rohekassine

ABL1, 9q34.1, punane

BCR, 22q11.2, roheline



Roheline sondisegu sisaldab BCR geeni tsentromeerselt märgistavat 173 kb sondi, mis ulatub geenideni GNAZ ja RAB36. Teine roheline sond katab BCR geeni 148 kb telomeerset piirkonda, millest osa ulatub geenini IGLL1.

Punane ja rohekassine sondisegu sisaldab geeni ABL1 katvat 348kb punast sondi ja geeni ASS1 katvat 173 kb rohekassinist sondi.

Tarnitavad materjalid

Sond: 50 µl viali kohta (5 analüüsi) või 100 µl viali kohta (10 analüüsi).

Sondid tarnitakse hübridisatsioonilahusega eelsegatuna (< 65% formamiid; < 20 mg dekstraansulfaat; < 10% 20-kordne naatriumsitraadi soolalahus (saline-sodium citrate, SSC)) ja on valmis kasutamiseks.

Vastandvärv: 150 µl viali kohta (15 analüüsi).

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

Hoiatused ja ettevaatusabinõud

1. Kasutamiseks *in vitro* diagnostikas. 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. Vabanegge kõigist kasutatud reaktiividest ja muudest saastunud ühekordseks kasutuseks ette nähtud vahenditest nakkusohutike või potentsiaalselt

DS1064/CE-et v002.00/2025-08-29 (H008 v4 / H010 v3)

Lk 1/5

- nakkusohetlike 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 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 määramised

- -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 hübridisatsioonilahus 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. Fluoresentsmikroskoop (vt lõiku Fluoresentsmikroskoobi soovitusel)
6. Faasikontrastmikroskoop
7. Läbipaistvast plastist, keraamilisest või kuumakindlast klaasist Coplini anumad
8. Pintsetid
9. Kalibreeritud pH-meeter (või pH indikaatorribad vahemikus pH 6,5–8,0)
10. Niiskuskamber
11. Fluoresentsmikroskoobi immersioonõli
12. Lauatsentrifuug
13. Mikroskoobi alusklaasid
14. 24×24 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. 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 vesinikkloriid (HCl)
6. Destilleeritud vesi

Fluoresentsmikroskoobi 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 fluorofooreid aktiveeruvad ja emiteerivad järgnevatel lainepikkustel:

Fluorofoor	Eksitatsioon _{max} [nm]	Emissioon _{max} [nm]
Rohekassinine	418	467
Roheline	495	521
Punane	596	615

Veenduge, et asjakohased eksitatsiooni- ja emissioonifiltrid, mis hõlmavad eespool esitatud lainepikkusi, on mikroskoopi paigaldatud. Kasutage ühe rohekassinise spektri läbilaskevõimega filtrit rohekassinise spektri optimaalseks visualiseerimiseks või kolme spektri läbilaskevõimega punase

spektri/roheline spektri/sinine spektri filtrit roheline, punase ja rohekassinise fluorofoori samaaegselt 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.⁴

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

1. Tilgutage rakuproov mikroskoobi klaasist alusklaasile. Laske kuivada. (**Tsütogeneetilise kuivatuskambri kasutamisel võite toimida järgmiselt:** Rakuproovi optimaalseks valmistamiseks tuleks kambrit 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. 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. Tsentrifuugige katsuteid lühidalt enne kasutamist.
6. Veenduge, et sondi lahust on ühtlaselt segunenud, kasutades pipetti.
7. Eemaldage 10 µl sondi analüüsi kohta ja viige see mikrotsentrifuugi katsutisse üle. Pange ülejäänud sond kiiresti külmikusse tagasi.
8. Asetage sond ja proovislaid 5 minutiks kuumutusplaadile eelsoojenema temperatuurile 37 °C (+/- 1 °C).
9. Tilgutage 10 µl sondisegu rakuproovile ja asetage ettevaatlikult 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.

Hübridisatsioon

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

Hübridisatsioonijärgsed 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.

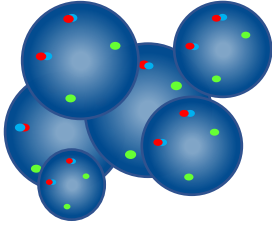
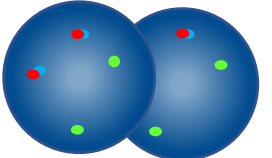
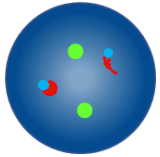
- Cytocell Ltd poolt toodetud või soovitatud reaktiivide asemel muude reaktiivide kasutamine võib ebasoodsalt mõjutada hübriidsatsioonitingimusi.
- Kasutage lahuste, vesivannide ja inkubaatorite temperatuuri mõõtmisel kalibreeritud termomeetrit, sest need temperatuurid on toote optimaalseks toimimiseks 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 denaturatsioon võib põhjustada signaali puudumist ja üleliigne denaturatsioon võib samuti põhjustada ebaspetsiifilist seondumist.
- Üleliigne hübriidsatsioon võib põhjustada täiendavaid või ootamatuid signaale.
- Kasutajad peaksid enne analüüsi kasutamist diagnostilisel eesmärgil protokollil oma proovidega optimeerima.
- Suboptimaalsed tingimused võivad põhjustada ebaspetsiifilist seondumist, mida võidakse ekslikult sondi signaalina tõlgendada.

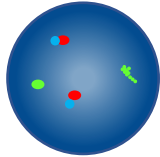
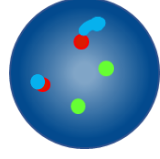
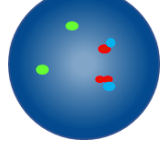
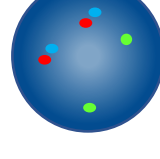
Tulemuste tõlgendamine
Slaidi kvaliteedi hindamine

- 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/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 terviklikud.

Analüüsi eeskirjad

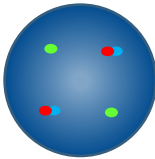
- Igat proovi peaks analüüsima ja tõlgendama kaks analüütikut. Kõik lahknevused tuleks lahendada kolmanda analüütiku hinnanguga.
- Analüütikud peaks olema riiklikult tunnustatud standardite kohase väljaõppega.
- Iga analüütik peaks hindama eraldi 100 tuuma iga proovi kohta. Esimene analüütik peaks alustama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

Analüüsi eeskirjad	
	Mitte lugeda, kui tuumad on piiride määramiseks üksteisele liiga lähedal
	Mitte lugeda kattuvaid tuumasid, sest mõlema tuuma kõik alasid ei ole näha
	Lugeda kahe punase/rohekassinise fusioonsignaalina ja kahe rohelise signaalina – üks kahest punasest signaalist on difuusne

	Lugeda kahe punase/rohekassinise fusioonsignaalina ja kahe rohelise signaalina – üks kahest rohelisest signaalist on difuusne
	Lugeda kahe punase/rohekassinise fusioonsignaalina ja kahe rohelise signaalina – üks kahest rohekassinisest signaalist on difuusne
	Lugeda kahe punase/rohekassinise fusioonsignaalina ja kahe rohelise signaalina – ühe punase signaali tühimik on väiksem kui kaks sondilaiust
	Lugeda kahe punase/rohekassinise fusioonsignaalina ja kahe rohelise signaalina – punase ja rohekassinise signaali vaheline tühimik on väiksem kui kaks sondilaiust

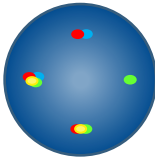
Eeldatavad tulemused
Eeldatav normaalne signaalimuster

Kolmevärviline Dual Fusion Probe

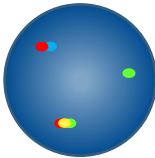


Normaalse raku eeldatav tulemus on kaks punast/rohekassinist ja kaks rohelist signaali (2P_{rohek}2R_{ohel}).

Eeldatavad ebanormaalsed signaalimustrid



Ümberkorraldusega t(9;22)(q34.1;q11.2) raku on eeldatav signaalimuster üks punane/rohekassinine fusioon, üks roheline signaal, üks punane/roheline fusioon, üks punane/roheline/rohekassinine fusioon (1P_{rohek}1R_{ohel}1P_{rohek}1R_{ohel}).



Ümberkorraldusega t(9;22)(q34.1;q11.2) ning proksimaalse 9q ja distaalse 22q deletsiooniga raku on eeldatav signaalimuster üks punane/rohekassinine fusioon, üks roheline signaal ja üks punane/roheline fusioon (1P_{rohek}1R_{ohel}1P_{rohek}1R_{ohel}).

Aneuploidsete/tasakaalustamata proovides võivad esineda teised signaalimustrid.

Teadaolevad asjakohased segajad / segavad ained
Asjakohaseid segajaid / segavaid aineid pole teada.

Teadaolev ristreaktiivsus
Roheline BCR distaalne sond võib näidata kuni 2 signaali 7. kromosoomil asukohas 7q11.2.

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 toimivusarakteristikud

Analüütiline spetsiifilisus

Analüütiline spetsiifilisus on määratletud kui üksnes õige lookusega hübridiseeritud signaalide protsent. Analüüsiti kolme (3) kromosomaalset lookust viie (5) proovi kõigis 100-s metafaasi rakus, saades 600 andmepunkti. Iga hübridiseeritud sondi asukoht kaardistati ja õige lookusega hübridiseeritud metafaasi kromosoomi FISH-i signaalide arv salvestati.

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

Tabel 1. Sondi BCR/ABL (ABL1) Plus Translocation, Dual Fusion Probe analüütiline spetsiifilisus

Sihtmärk	Hübridiseeritud metafaasi kromosoomide arv	Õigesti hübridiseeritud lookuste arv	Analüütiline spetsiifilisus	95% usaldusvahemik
9q34.1	200	200	100%	98,12–100%
22q11.2	200	200	100%	98,12–100%
9q34.1	200	200	100%	98,12–100%

Analüütiline tundlikkus

Analüütiline tundlikkus on hinnatavate interfaasi rakkude protsent eeldatava normaalse signaalmustri suhtes. Iga 25 fikseeritud luuüdirakususpensiooni kohta, mis tunnistati BCR::ABL1 translokatsiooni ja ASS1 deletsiooni suhtes negatiivseks, analüüsiti vähemalt 100 interfaasi raku, saades tulemuseks vähemalt 2500 tuuma iga proovitüübi kohta. Tundlikkuse andmeid analüüsiti normaalse eeldatava signaalmustriga rakkude protsendi alusel ja väljendati protsendina 95% usaldusvahemikuga.

Tabel 2. Sondi BCR/ABL (ABL1) Plus Translocation, Dual Fusion Probe analüütiline tundlikkus

Proovi tüüp	Tundlikkuse kriteeriumid	Tundlikkuse tulemus
Luuüdi	>95%	100,0% (± Ei kohaldata)

Normaalse väljaarvamise piirväärtuste kirjeldus

Normaalne väljaarvamine määratletakse nende rakkude protsendina, mis näitavad valepositiivset signaalmustrit, mille korral isik loetakse normaalseks ja kliinilisele diagnoosile mittevastavaks. Iga 25 fikseeritud luuüdirakususpensiooni ja proovi korral, mis tunnistati BCR::ABL1-i translokatsiooni suhtes negatiivseks, analüüsiti vähemalt 100 interfaasi raku, saades tulemuseks vähemalt 2500 tuuma iga proovitüübi kohta.

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

Tabel 3. Sondi BCR/ABL (ABL1) Plus Translocation, Dual Fusion Probe normaalse väljaarvamise piirväärtuste kirjeldus

Proovi tüüp	Signaalmuster	Väljaarvamise tulemus
Luuüdi	1Prohek1Rohel1PRohel	2,95%
	1Prohek1Rohel1PRohel1PRohelRohek	2,95%

Laborid peavad oma andmete põhjal kinnitama väljaarvamise piirväärtused.^{5,6}

Kordustäpsus

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

Kasutati kolme proovi, et hinnata selle toote kordustäpsust: Cytocelli fikseeritud rakuproovide pangast hangitud deidentifitseeritud luuüdiproovidest pärit 3:1 metanooli/atseethappe segus fikseeritud jääkmaterjal. Valimi suurus oli kolm (3), kattes eeldatava vahemiku normaalsest nõrgalt positiivseni.

Päevadevahelise ja päevasise kordustäpsuse kindlaks tegemiseks hinnati proove kümnel (10-l) mittejärjestikusel päeval ning partii-partiiga täpsuse kindlakstegemiseks hinnati toote kolme (3) partiid sama proovi kolme (3)

replikaadiga. Tulemused esitati üldise ühilduvusena prognoositud negatiivse klassiga (negatiivsete proovide korral).

Tabel 4. Sondi BCR/ABL (ABL1) Plus Translocation, Dual Fusion Probe reprodutseeritavus ja kordustäpsus

Muutuja	Proovi tüüp	Ühilduvus
Päevasisene (proov-prooviga) ja päevadevaheline (päev-päevaga) reprodutseeritavus	Luuüdi, negatiivne	96,7%
	Luuüdi nõrgalt positiivne 1PRohel1Rohel1PRohel	96,7%
	Luuüdi nõrgalt positiivne 1PRohel1Rohel1PRohel1PRohelRohek	83,3%
Partii-partiiga reprodutseeritavus	Luuüdi, negatiivne	100,0%
	Luuüdi nõrgalt positiivne 1PRohel1Rohel1PRohel	100,0%
	Luuüdi nõrgalt positiivne 1PRohel1Rohel1PRohel1PRohelRohek	77,8%

Kliiniline toimivus

Tagamaks, et toode tuvastab ettenähtud ümberkorraldused, tehti toote kliiniline toimivus kindlaks toote sihtpopulatsiooni esindusproove hõlmava kahe uuringuga: Carnoy lahuses (3:1 metanool/atseethape) fikseeritud hematoloogiliselt tuletatud rakususpensioonid, mis pärinevad kinnitatud või kahtlustatud kroonilise müeloidse leukeemia (CML), ägeda müeloidse leukeemia (AML) või ägeda lümfoblastse leukeemia (ALL) patsientidelt, ja on ette valmistatud vastavalt labori või asutuse eeskirjadele. Valimi suurus uuringute peale kokku oli 125 proovi, millest 99 olid BCR::ABL1 translokatsiooni suhtes negatiivsed ja 26 BCR::ABL1 translokatsiooni suhtes positiivsed proovid. Tulemusi võrreldi proovi teadaoleva olekuga. Sond tuvastas kõigil juhtudel proovi oleku õigesti.

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

Tabel 5. Sondi BCR/ABL (ABL1) Plus Translocation, Dual Fusion Probe kliiniline toimivus

Muutuja	Tulemus
Kliiniline tundlikkus (true positive rate, TPR) (tõeselt positiivsete määr)	98,97%
Kliiniline spetsiifilisus (true negative rate, TNR) (tõeselt negatiivsete määr)	99,73%
Valepositiivsete määr (false positive rate, FPR) = 1–spetsiifilisus	0,27%

Ohutuse ja toimivuse kokkuvõte (OTK)

OTK tehakse avalikkusele ligipääsetavaks Euroopa meditsiiniseadmete andmebaasi (Eudamed) kaudu, kus see on seotud põhi-UDI-DI-ga. Eudamed URL: <https://ec.europa.eu/tools/eudamed> Põhi-UDI-DI: 50558449LPH038JQ

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

- 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 March 29]. (WHO classification of tumours series, 5th ed.; vol. 11). Available from: <https://tumourclassification.iarc.who.int/chapters/63>
- Soupir et al., Am J Clin Pathol 2007;127:642-650
- Robinson et al., Leukemia 2005;19(4):564-71
- Arsham, MS., Barch, MJ. 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 kaitsult	5.3.2
	et: Temperatuuripiirang	5.3.7
	et: Vt kasutusjuhised	5.4.3
 oqt.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.oqt.com



Sysmex Europe SE
Bornbarch 1
22848 Norderstedt
SAKSAMAA

Tel: +49 40 527260
Veebisait: www.sysmex-europe.com

Kasutusjuhendi versioonialalugu
V001 2023-01-11: Uus kasutusjuhend kooskõlas määrusega (EL) 2017/746
V002 2025-08-29: UKCA märgi eemaldamine