



A Sysmex Group Company



Kasutusjuhend

REF: CE-LPH 007-S / CE-LPH 007

BCR/ABL (ABL1) Translocation, Dual Fusion Probe



AINULT ERIALASEKS KASUTAMISEKS



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

Kasutusotstarve

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

Näidustused

See seade on loodud täiendusena teistele kliinilistele ja histopatoloogilistele uuringutele tunnustatud diagnostilistes ja kliinilistes raviteedes, kus teadmised *BCR::ABL1* translokatsiooni oleku kohta on kliinilise ravi seisukohalt olulised.

Piirangud

Seade on loodud tuvastama murdepunktidega ümberkorraldusi sondikomplekti punase ja roheline klooniga kaetud piirkonnas, mis sisaldab *BCR* ja *ABL1* 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 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 laboratoorsete analüüside täiendamiseks ja ravi ei tohi 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. Protokolli järgimata jätmine võib mõjutada analüüsi toimivust ja põhjustada valepositiivseid/negatiivseid tulemusi.

Analüüsi põhimõte

Fluorestsents *in situ* hübriidsaatsioon (FISH) on meetod DNA järjestuste tuvastamiseks metafaasi kromosoomides või fikseeritud tsütogeneetiliste proovide interfasei tuumades. Meetod kasutab DNA sonde, mis hübriidseeritakse kogu kromosoomi või üksiku unikaalse järjestusega ning toimib G-vöödi tsütogeneetiliste analüüsides 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 hübriidseerimist eemaldatakse seondumata ja ebaspetsiifiliselt seotud DNA sond ning DNA visualiseeritakse vastandvärvimisega. Seejärel võimaldab fluorestsentsmikroskoopia hübriidseeritud sondi visualiseerimist sihtmärkmaterjalil.

Sondi teave

BCR (*RhoGEF-i* ja *GTPaasi BCR-aktivaator*) geeni asukoht on 22q11.2 ja *ABL1* (*ABL protoonkogeen 1, mitteretseptori türosiini kinaas*) geeni asukoht on 9q34.1.

Nende kahe geeni vaheline translokatsioon tekitab *BCR::ABL1* fusioongeeni ja annab Philadelphia kromosoomi, mis on translokatsiooni nähtav tulemus.

BCR::ABL1 fusiooni esinemisel on tähtis diagnostiline ja prognostiline tähtsus mitmete hematoloogiliste häirete puhul.

Translokatsioon t(9;22)(q34.1;q11.2) on kroonilise müeloidse leukeemia (CML) tunnus ja seda esineb 90–95% juhtudest¹. Ülejäänud juhtudel on translokatsiooni variatsioon või 9q34.1 ja 22q11.2 hõlmav krüptiline ümberkorraldus, mida ei saa tuvastada rutiinse tsütogeneetilise analüüsiga¹.

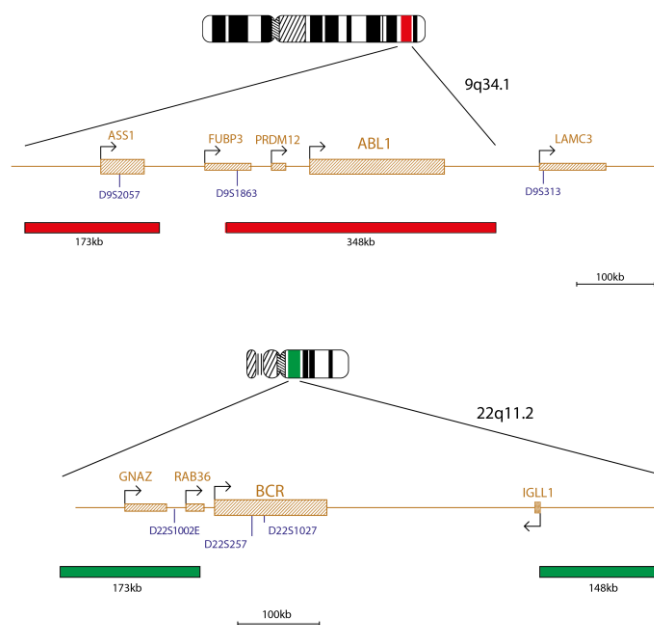
BCR::ABL1 fusiooni võib leida ka 25% ägeda lümfoblastse leukeemiaga (ALL) täiskasvanutel ja 2–4% ALL-ga lastel¹. *BCR::ABL1* fusiooni esinemist seostatakse halva prognoosiga nii ALL-ga täiskasvanutel kui ka lastel^{1,2}. Seega on kõrvalekalde tuvastamine riski stratifitseerimise seisukohalt väga tähtis ja mõjutab ravimise ja ravi juhtimise otsuseid². Väikesel hulgal ALL-i juhtudest ei põhjusta translokatsioon tsütogeneetiliselt nähtavat Philadelphia kromosoomi. Nendel juhtudel on fusioongeeni esiletõstmiseks esmatähtis FISH³.

Seda ümberkorraldust esineb harva ka ägeda müeloidse leukeemiaga (AML). Philadelphia-positiivsele AML-le on iseloomulik resistentsus tavapärasele standardsele keemiaravile ja halb prognoos⁴, nii et selle kromosomaalse kõrvalekalde täpne ja kiire tuvastamine on üliluline.

Sondi spetsifikatsioon

ABL1, 9q34.1, punane

BCR, 22q11.2, roheline



Punane sondisegu sisaldab *ABL1* geeniga seonduvat 348 kb sondi ja *ASS1* geeniga seonduvat 173 kb sondi. 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*.

Tarnitavad materjalid

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

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

Vastandvärv: 150 µl viaali kohta (15 analüüsi)

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

Hoiatused ja ettevaatusabinõud

1. Kasutamiseks *in vitro* diagnostikas. Ette nähtud vaid erialaseks laboratoorseks kasutamiseks.
2. Sondi segud sisaldavad formamiidi, mis on teratogeenne; ärge hingake sisse auru ning vältige kontakti nahaga. Käsitsege ettevaatlikult; kasutage kindaid ja laborikilti.
3. Käsitsege DAPI-t ettevaatlikult; kasutage kindaid ja laborikilti.
4. Ärge kasutage, kui viaal(id) on kahjustatud või kui viaali sisu on mistahes viisil rikitud.
5. Tootejätmete ohutuks käitlemiseks järgige kohalikke jäätmekäitluseeskirju ja kemikaali ohutuskaidil toodud soovitusi. See kehtib ka kahjustatud analüüsikomplekti sisule.
6. Vabaneege kõigist kasutatud reaktiividest ja muudest saastunud ühekordseks kasutuseks ette nähtud vahenditest nakkusohutike või potentsiaalselt nakkusohutike 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.

DS552/CE-et v003/2025-09-09 (H008 v4 / H009 v3)

Lk 1/5

7. Kasutajad peavad olema suutelised eristama punast, sinist ja rohelist värvi.
8. Esitatud protokoll ja reaktiivide järgimata jätmine võib mõjutada analüüsi toimivust ja põhjustada valepositiivseid/valenegatiivseid tulemusi.
9. Soni ei tohiks lahjendada ega segada teiste sondidega.
10. Kui denatureerimise eel etapil ei kasutata 10 µl soni, 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 käsitlemine

 Komplekti tuleb säilitada külmutatuna temperatuurivahemikus -25...-15 °C kuni kehtivusaja lõpuni, mis on esitatud toote etiketil. Soni ja vastandvärvi viaale 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 soni eemaldamisest külmikust kuni sinna tagasipanekuni)–5 tsüklit 50 µl (5 analüüsi) FISH-i soni viaali puhul, 10 tsüklit 100 µl (10 analüüsi) FISH-i soni 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 märgitust 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. 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 naatriumtsitraadi soolalahus (SSC)
2. 100%-line etanool
3. Tween-20
4. 1M naatriumhüdroksiid (NaOH)
5. 1M vesinikkloriid (HCl)
6. Destilleeritud vesi

Fluorestsentsmikroskoobi soovitusel

Kasutage optimaalseks visualiseerimiseks 100-vatist elavhõbelampi või sellega samaväärset ning immersioonõliga apokromaatsset objektiivi 60/63-kordse või 100-kordse suurendusega. Selles soni 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 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 kohta⁵.

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

(Märkus. Veenduge, et soni ja vastandvärvi kokkupuude labori valgustusega oleks kogu aeg piiratud).

Slaidi ettevalmistamine

1. Tilgutage rakuproov mikroskoobi klaasist alusklaasile. Laske kuivada. (Tsütogeneetilise kuivatuskambri kasutamisel võite toimida järgmiselt: optimaalseks slaidi valmistamiseks tuleks 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. Dehüdrateerige etanoolilahuste seerias (70%, 85% ja 100%), igas 2 minutit toatemperatuuril.
4. Laske kuivada.

Enne denaturatsiooni

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

Denaturatsioon

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

Hübridisatsioon

11. Asetage slaid niiskesse valguskindlasse kambrisse temperatuurile 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 soovitus

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

Tulemuste tõlgendamine

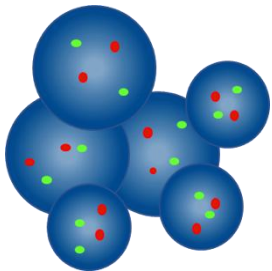
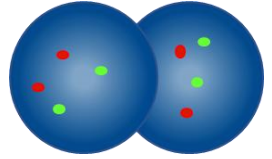
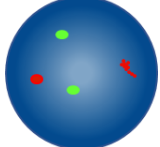
Slaidi kvaliteedi hindamine

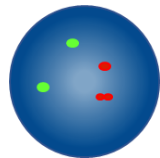
Slaidi ei tohiks analüüsida, kui

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

Analüüsi eeskirjad

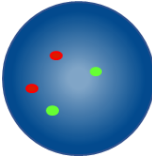
- Igat proovi peaks analüüsima ja tõlgendama kaks analüütikut. Kõik lahknemused tuleks lahendada kolmanda analüütiku hinnanguga.
- Analüütikud peaks olema riiklikult tunnustatud standardite kohase väljaõppega.
- Iga analüütik peaks hindama eraldi 100 tuuma iga proovi kohta. Esimene analüütik peaks alustama slaidi vasakult küljelt ja teine analüütik paremalt küljelt.
- Iga analüütik peaks oma tulemused üles märkima eraldi andmekandjale.
- Analüüsige vaid terviklikke tuumi, mitte kattuvaid või kokkukleepunud või tsütoplasma jääkidega kaetud ega autofluorestsenteerivaid tuumi.
- Vältige alasid, kus esineb liigseid tsütoplasma jääke või ebaspetsiifilist hübriidseerimist.
- 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 ahmane 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 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 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
---	--

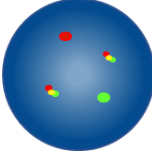
Eeldatavad tulemused

Eeldatav normaalne signaalimuster



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

Eeldatavad ebanormaalsed signaalimustrid



Translokatsiooniga t(9;22)(q34.1;q11.2) 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

Roheline BCR-i sond võib näidata 7. kromosoomi risthübridisatsiooni 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 tõsisest juhtumist teavitada tootjat ja, kui see on nõutav, riiklikku pädevat ametiasutust. Tootja järelevalvet 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 hübriidseeritud signaalide protsentarv. Analüüsiti nelja kromosomaalset lookust viie proovi kõigis 20-s metafaasi rakus, saades 400 andmepunkti. Iga hübriidseeritud sondi asukoht kaardistati ja õige lookusega hübriidseeritud metafaasi kromosoomi FISH-i signaalide arv salvestati.

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

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

Sihtmärk	Hübriidseeritud metafaasi kromosoomide arv	Õigesti hübriidseeritud lookuste arv	Analüütiline spetsiifilisus	95% usaldusvahemik
9q34.1	200	200	100%	98,12–100%
22q11.2	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 perifeerse vere rakuspensiooni kohta, mis tunnistati BCR::ABL-i ümberkorralduse suhtes negatiivseks, analüüsiti vähemalt 100 interfaasi rakku, saades tulemuseks vähemalt 2500 tuuma iga proovitüübi kohta. Tundlikkuse andmeid analüüsiti normaalse eeldatava signaalimustriga rakkude protsendi alusel ja väljendati protsendina 95% usaldusvahemikuga.

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

Proovi tüüp	Tundlikkuse kriteeriumid	Tundlikkuse tulemus
Luuüdi	>95%	97,60% (96,78–98,41%)
Perifeerne veri	>95%	98,73% (97,97–99,50%)

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 25 fikseeritud perifeerse vere rakususpensiooni kohta, mis tunnistati BCR::ABL-i ümberkorralduse suhtes negatiivseks, analüüsi 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) Translocation, Dual Fusion Probe normaalse väljaarvamise piirväärtuste kirjeldus

Proovi tüüp	Väljaarvamise tulemus
Luuüdi	2,39%
Perifeerne veri	2,55%

Laborid peavad oma andmete põhjal väljaarvamise piirväärtused kinnitama^{6,7}.

Täpsus

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

Toote täpsuse hindamisel kasutati kaht (2) proovi: negatiivset luuüdiproovi ja nõrgalt positiivset luuüdiproovi. Nõrgalt positiivne luuüdiproov konstrueeriti negatiivse luuüdiproovide osast, mida väärindati teadaoleva positiivse luuüdiprooviga, eesmärgiga luua nõrgalt positiivne proov 2–4-kordses väljaarvamise vahemikus, mida kasutati toote testimisel kindlaks tehtud väljaarvamise kontrollimisel.

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

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

Muutuja	Proovi tüüp	Ühilduvus
Päevasine ja päevadevaheline täpsus	Luuüdi, negatiivne	100%
	Luuüdi, nõrgalt positiivne	86,7%
Partii-partiiga täpsus	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, milles kasutati 3:1 metanooli/atseethappega fikseeritud jääkmaterjali. Uuringu proovide hulk oli 947 proovi, mille populatsiooni moodustas 84 positiivset luuüdiproovi ja 155 positiivset perifeerse vere proovi ning 697 negatiivset luuüdiproovi ja 11 negatiivset perifeerse vere proovi. Tulemuste ühilduvuse/ebakõla tulemused vastasid selle uuringu vastuvõetavuskriteeriumidele.

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

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

Muutuja	Tulemus
Kliiniline tundlikkus (true positive rate, TPR) (tõeselt positiivsete määr)	98,93%
Kliiniline spetsiifilisus (true negative rate, TNR) (tõeselt negatiivsete määr)	99,63%
Valepositiivsete määr (false positive rate, FPR) = 1–spetsiifilisus	0,37%

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: 50558449LPH007JD

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@cytozell.com Veebisait: www.ogt.com

Viited

1. Swerdlow *et al.*, editors, WHO Classification of Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissues, Lyon, France, IARC:2008
2. Harrison *et al.*, BJH 2010;151:132-142
3. Van Rhee *et al.*, Br J Haematol 1995;90:225-8
4. Soupir *et al.*, Am J Clin Pathol 2007;127:642-650
5. Arsham, MS., Barch, MJ. ja Lawce HJ. (toim.) (2017) *The AGT Cytogenetics Laboratory Manual*. New Jersey: John Wiley & Sons Inc.
6. 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.
7. 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” (© 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: 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)
	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

E-post: probes@cytocell.com

Veebisait: www.ogt.com

**Sysmex Europe SE**

Deelböge 19 D
22297 Hamburg
SAKSAMAA

Veebisait: www.sysmex-europe.com

Kasutusjuhendi versioonialugu

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

V002 2025-08-29: UKCA märgi eemaldamine

V003 2025-09-09: Uuendus ELi volitatud esindaja aadressile. ELi volitatud esindaja telefoninumbri eemaldamine. OGT fakside numbri eemaldamine