



A Sysmex Group Company



## Kasutusjuhend

REF: CE-LPH 013-S / CE-LPH 013

## MLL (KMT2A) Breakpart Probe



AINULT ERIALASEKS KASUTAMISEKS



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

### Kasutusotstarve

Sond CytoCell® MLL (KMT2A) Breakpart Probe on kvalitatiivne, mitteautomaatne, fluorestsents *in situ* hübridisatsiooni (FISH) uuring, mida kasutatakse 11. kromosoomi 11q23.3 piirkonna kromosomaalsete ümberkorralduste tuvastamiseks Carnoy lahuses (3:1 metanool/atseethape) fikseeritud hematoloogilistelt tuletatud rakuspensioonides, mis pärinevad kinnitatud või kahtlustatud ägeda müeloidse leukeemia (AML), müelodüplastilise sündroomi (MDS) või ägeda lümfoblastse leukeemia (ALL) patsientidelt.

### Näidustused

See seade on loodud täiendusena teistele kliinilistele ja histopatoloogilistele uuringutele tunnustatud diagnostilistes ja kliinilistes raviteedes, kus teadmised *MLL* (*KMT2A*) ümberkorralduse oleku kohta on kliinilise ravi seisukohalt olulised.

### Piirangud

Seade on loodud tuvastama murdepunktidega ümberkorraldusi sondikomplekti punase ja rohelise klooniga seotud piirkonnas, mis sisaldab *MLL* (*KMT2A*) geeni. 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 iseendal 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.

Protokolli 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

*KMT2A* (lüsini metüültransferaas 2A) geen asukohas 11q23.3 on ägeda leukeemiaga sageli ümber korraldatud, eriti imikute leukeemia ja sekundaarse leukeemia puhul pärast ravi DNA topoisomeraas-II inhibiitoritega<sup>1</sup>.

Geenil *KMT2A* on suur homoloogia *drosophila trithoraxi* geeniga ja see kodeerib histooni metüültransferaasi, mis toimib epigeneetilise transkriptsiooni regulaatorina. *KMT2A* translokatsioonide tulemuseks on kimäärse valgutootmine, milles *KMT2A* aminoterminaalne osa on sulandunud fusioonipartneri geeni karboksüterminaalse osaga. Funktsionaalsel valgul on oluline roll embrüonaalses arengus ja vereloomes<sup>1,2,3,4</sup>.

*KMT2A* ümberkorraldusi on võimalik tuvastada ligikaudu 80% ägeda lümfoblastse leukeemiaga (ALL) imikutel ja 5–10% ALL-ga lastel või täiskasvanutel<sup>3,4</sup>. Samuti leidub neid 60% ägeda müeloidse leukeemiaga (AML) imikutel ja 3% de novo ja 10% raviga seotud täiskasvanute AML-i juhtudest<sup>3,5</sup>. Praeguseks on tuvastatud 70 partnerit ja kõige sagedasemad translokatsiooni on *MLL::AFF1*; t(4;11)(q21;q23.3), *MLL::MLLT4*; t(6;11)(q27;q23.3), *MLL::MLLT3*; t(9;11)(p22;q23.3) ja *MLL::MLLT1*; t(11;19)(q23.3;p13.3)<sup>1</sup>.

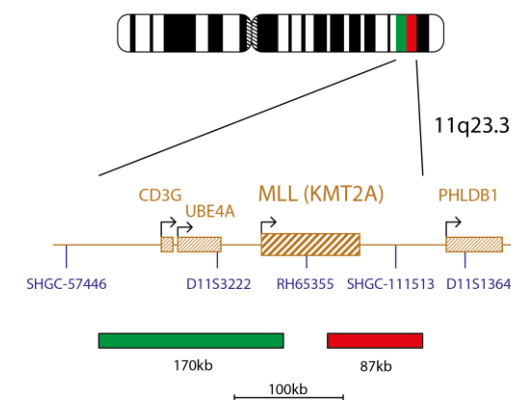
Ajalooliselt seostati *KMT2A* ümberkorraldusi ägeda leukeemia puhul halvema prognoosiga, kuid hiljutised uuringud on näidanud, et prognoos sõltub suurel määral fusioonipartnerist ning võib lastel ja täiskasvanutel erineda<sup>1</sup>.

### Sondi spetsifikatsioon

MLL, 11q23.3, punane

MLL, 11q23.3, roheline

CMP-H036 v006.00



MLL-i toode sisaldab 87 kb *MLL* (*KMT2A*) geeni suhtes telomeerset piirkonda hõlmavat punasega märgistatud sondi, mis sisaldab markerit SHGC-111513, ja 170 kb *MLL* geeni suhtes tsentromeerset piirkonda hõlmavat rohelist sondi, mis hõlmab *CD3G* ja *UBE4A* geene.

### Tarnitavad materjalid

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

Sonidid tarnitakse hübridiseerimislahusega eelsegatuna (< 65% formamiid; < 20mg 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 kinnituskomplektis).

### Hoiatused ja ettevaatusabinõud

1. Kasutamiseks *in vitro* diagnostikaks. 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 laborikittit.
3. Käsitsege DAPI-t ettevaatlikult; kasutage kindaid ja laborikittit.
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 ohutuskaidit toodud soovitusi. See kehtib ka kahjustatud analüüsikomplekti sisule.
6. Vabaneged kõigist kasutatud reaktiividest ja muudest saastunud ühekordseks kasutuseks ette nähtud vahenditest nakkusohutike või potentsiaalselt nakkusohutike jäätmekäitlemise eeskirjade kohaselt. Iga labor peab ise vedelaid ja tahkeid jäätmekäitlema 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 suutlised eristama punast, sinist ja rohelist värvi.
8. Esitatud protokollid ja reaktiivide järgimata jätmine võib mõjutada analüüsi toimivust ja põhjustada valepositiivseid/valenegatiivseid tulemusi.
9. Sondi ei tohiks lahjendada ega segada teiste sondidega.
10. Kui denatureerimise eelektap ei kasutata 10 µl sondi, nagu on protokollis ette nähtud, siis võib see mõjutada analüüsi toimivust ja põhjustada valepositiivseid/valenegatiivseid tulemusi.
11. Kõiki tooteid tuleb enne kasutamist valideerida.

12. Sisemised kontrollid tuleb läbi viia kontrollproovidega, mis sisaldavad mõjutamata rakupopulatsioone.

Temperatuuri määratlused

- -20 °C / külmutatud / külmikus: -25 °C...-15 °C
- 37 °C: +37 °C ± 1 °C
- 72 °C: +72 °C ± 1 °C
- 75 °C: +75 °C ± 1 °C
- Toatemperatuur: +15 °C...+25 °C

Säilitamine ja käsitsemine

 Komplekti tuleb säilitada külmutatuna temperatuurivahemikus -25...-15 °C kuni kehtivusaja lõpuni, mis on esitatud toote etiketil. Sondi ja vastandvärvi viaale tuleb säilitada pimedas.



FISH-i 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 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.

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 soovitused)
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 katteklaseid
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 soovitus

Kasutage optimaalseks visualiseerimiseks 100-vatist elavhõbelampi või sellega samaväärset ning immersioonõliga apokromaatsset objektiivi 60/63-kordse või 100-kordse suurendusega. Selles sondi kompleksis kasutatud fluorofoorid aktiveeruvad ja emiteerivad järgnevat lainepikkustel:

| Fluorofoor | Eksitatsioon <sub>max</sub><br>[nm] | Emissioon <sub>max</sub><br>[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 lahusega (3:1 metanool/atseethape) fikseeritud hematoloogiliselt tuletatud rakususpensioonides, mis pärinevad kinnitatud või kahtlustatud ägeda müeloidse leukeemia (AML), müelodüsplastilise

sündroomi (MDS) või ägeda lümfoblastse leukeemia (ALL) 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 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 sondi ja vastandvärvi kokkupuude labori valgustusega oleks kogu aeg piiratud).

Slaidi ettevalmistamine

1. Tilgutage rakuproov mikroskoobi klaasist alusklaasile. Laske kuivada. (Tsütogeneetilise kuivatuskambriga 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).
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 sondi lahust on ühtlaselt segunenud, kasutades pipetti.
7. Eemaldage 10 µl sondi 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 katteklase. 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.

Hübriidsatsioon

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

Hübriidsatsioonijärgsed pesud

12. Eemaldage DAPI külmikust ja laske soojeneda toatemperatuurile.
13. Eemaldage ettevaatlikult katteklaseid ja kõik liimijäljed.
14. Kastke slaidid 2 minutiks ilma segamata 0,4-kordsesse SSC lahusesse (pH 7,0) temperatuuril 72 °C (+/-1 °C).
15. Kuivatage slaid ja kastke see 30 sekundiks ilma segamata 2-kordsesse SSC lahusesse, 0,05% Tween-20 lahusesse, toatemperatuuril (pH 7,0).
16. Kuivatage slaid ja lisage igale proovile 10 µl pleekimisvastast DAPI-d.
17. Katke katteklasega, eemaldage mullid ja laske värvil pimedas kujuneda 10 minutit.
18. Vaadake fluorestsentsmikroskoobiga (vt Fluorestsentsmikroskoobi soovitus)

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 hübriidiseerimistingimusi.
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 hübridiseerimine võib põhjustada täiendavaid või ootamatuid signaale.
7. Kasutajad peaksid enne analüüsi kasutamist diagnostilisel eesmärgil protokoll 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

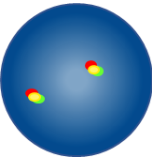
- signaalid on ühe filtriga analüüsimiseks liiga nõrgad – analüüsi jätkamiseks peaksid signaalid olema eredad, selged ja lihtsalt hinnatavad;
- liiga palju kokkukleepunud/kattuvasid rakke segavad analüüsimist;
- üle 50% rakkudest pole hübridiseeritud;
- rakkude vahel on üleliigsed fluorestsentsosakesed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

**Analüüsi eeskirjad**

- Iga 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 autofluorestsereivaid tuumi.
- Vältige alasid, kus esineb liigseid tsütoplasma jääke või ebaspetsiifilist hübridiseerimist.
- 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 roheline signaali vahel tühimik suurem kui 2 signaalipikkust, lugege see ümber korraldamata / sulandunud signaaliks
- Kui kahtlete, kas proov on analüüsimiseks sobiv, siis ärge analüüsige seda.

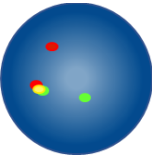
| Analüüsi eeskirjad |                                                                                                                     |
|--------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|                    | Mitte lugeda, kui tuumad on piiride määramiseks üksteisele liiga lähedal                                            |
|                    | Mitte lugeda kattuvaid tuumasid, sest mõlema tuumi kõik alasid ei ole näha                                          |
|                    | Lugeda kahe fusioonsignaalina, kui punase ja roheline signaali vaheline tühimik on kahest signaalipikkusest väiksem |
|                    | Lugeda kahe fusioonsignaalina, kui üks fusioonsignaali on difuusne                                                  |

**Eeldatavad tulemused**  
**Eeldatav normaalne signaalimuster**



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

**Eeldatav ebanormaalne signaalimuster**



Tasakaalustatud MLL (KMT2A) ümberkorraldusega rakus on eeldatav signaalimuster üks punane, üks roheline ja üks punane/roheline fusioonsignaali (1F1P1R).

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 tõsistest juhtumitest teavitada tootjat ja, kui see on nõutav, riiklikku pädevat ametiasutust.  
Tootja järelevalvet 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 hübridiseeritud signaalide protsentarv. Analüütiline spetsiifilisus saavutati kokku 200 sihtmärk-lookuse analüüsimisel. Analüüsiiti 2 kromosomaalset lookust 5 proovi kõigis 20-s metafaasi rakus, saades 200 andmepunkti. Analüütiline spetsiifilisus arvutati, jagades õige lookusega hübridiseeritud FISH-i signaalide arvu kogu hübridiseeritud FISH-i signaali arvuga.

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 MLL (KMT2A) Breakapart Probe analüütiline spetsiifilisus

| Sond                       | Sihtmärk | Hübridiseeritud metafaasi kromosoomide arv | Õigesti hübridiseeritud lookuste arv | Analüütiline spetsiifilisus (%) | 95% usaldusvahemik (%) |
|----------------------------|----------|--------------------------------------------|--------------------------------------|---------------------------------|------------------------|
| MLL distaalne, punane      | 11q23.3  | 200                                        | 200                                  | 100                             | 98,12–100              |
| MLL proksimaalne, roheline | 11q23.3  | 200                                        | 200                                  | 100                             | 98,12–100              |

**Analüütiline tundlikkus**  
Analüütiline tundlikkus on hinnatavate interfaasi rakkude protsent eeldatava normaalse signaalimustri suhtes. Iga 25 karüotüüpiliselt normaalse Carnoy lahuses fikseeritud luuüdirakususpensiooni kohta analüüsiiti vähemalt 200 interfaasi rakku, saades tulemuseks vähemalt 5000 tuuma iga proovitüübi kohta. Tundlikkuse andmeid analüüsiiti normaalse eeldatava signaalimustriga rakkude protsendi alusel ja väljendati protsendina 95% usaldusvahemikuga.

Tabel 2. Sondi MLL (KMT2A) Breakapart Probe analüütiline tundlikkus

| Eeldatava signaalimustriga rakkude arv | Hinnatava signaaliga rakkude koguarv | Analüütiline tundlikkus (%) | 95% usaldusvahemik (%) |
|----------------------------------------|--------------------------------------|-----------------------------|------------------------|
| 4965                                   | 5000                                 | 99,3                        | 99,08–99,52            |

FISH-i sondidega seotud normaalse väljaarvamise piirväärtus on hinnatavate, teatud ebanormaalse signaalmustriga 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 signaalmustrid kahe sõltumatu analüütiku poolt, kokku 200 proovi kohta.

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

Tabel 3. Sondi MLL (KMT2A) Breakapart Probe normaalse väljaarvamise piirväärtuste kirjeldus

| Ebanormaalne signaalmuster | Väljaarvamise piirväärtuse loomiseks analüüsitud proovide arv | Proovi kohta hinnatud tuumade arv | Max valepositiivsete signaalmustrite arv | Normaalne väljaarvamise piirväärtus (%) |
|----------------------------|---------------------------------------------------------------|-----------------------------------|------------------------------------------|-----------------------------------------|
| 1P1R1F                     | 1600                                                          | 200                               | 3                                        | 3,8                                     |

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 (uuringukoht-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 MLL (KMT2A) Breakapart Probe reproduktseeritavus

| Reproduktseeritavuse uuring                        | Proov                                    | Ühilduvus (%) |
|----------------------------------------------------|------------------------------------------|---------------|
| Päevasisene/päevadevaheline/uuringukohtadevaheline | 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 toode tuvastab ettenähtud ümberkorraldused, tehti toote kliiniline toimivus kindlaks kolme retrospektiivse uuringuga, mis teostati välistes uuringukohtades. Uuringute kombineeritud proovide hulk oli nelisada kaheksakümmend kaheksa (488), millest kaheksateist (18) proovi olid positiivsed ja nelisada seitsekümmend (470) proovi olid negatiivsed kõigi uuringukohtade peale kokku. Iga proovi positiivne olek kinnitati kaubanduses saadaval oleva võrdlussondiga, mida turustab mõni konkureeriv varustaja ja mis tuvastab samu hälbeid nagu hinnatavad sondid, või võrdluses G-võõrõilise karüotüübiga.

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

Tabel 5. Sondi MLL (KMT2A) Breakapart Probe kliiniline toimivus

| Muutuja                                                                         | Tulemus |
|---------------------------------------------------------------------------------|---------|
| Kliiniline tundlikkus (true positive rate, TPR) (tõeselt positiivsete määr)     | 99,93%  |
| Kliiniline spetsiifilisus (true negative rate, TNR) (tõeselt negatiivsete määr) | 99,97%  |
| Valepositiivsete määr (false positive rate, FPR) = 1–spetsiifilisus             | 0,03%   |

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: 50558449LPH013J8

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

Viited

1. Tamai, Inokuchi, J Clin Exp Hematopathol 2010;50(2):91-98
2. Wright, Vaughan, Critical Reviews in Oncology/Hematology 2014;91(3):283-291
3. Van der Burg et al., Leukemia 2004;18(5):895-908
4. Tomizawa, Pediatr Int 2015;57(8):811-819
5. Grossman et al., Leukemia 28 March 2013; doi10.1038/leu.2013.90
6. Arsham, MS., Barch, MJ. ja Lawce HJ. (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, 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”<br>(© 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                  |
| <br>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**

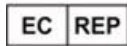
Oxford Gene Technology  
418 Cambridge Science Park  
Milton Road  
CAMBRIDGE  
CB4 0PZ  
ÜHENDKUNINGRIIK

Tel: +44 (0)1223 294048

Faks: +44 (0)1223 294986

E-post: [probes@cytoCell.com](mailto:probes@cytoCell.com)

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

**Sysmex Europe SE**

Bornbarch 1  
22848 Norderstedt  
SAKSAMAA

Tel: +49 40 527260

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

**Kasutusjuhendi versioonialalugu**

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

V002 2025-08-29: UKCA märgi eemaldamine