



A Sysmex Group Company



Kasutusjuhend

REF: LPH 036-S / LPH 036

Sond EVI1 (MECOM) Breakapart Probe



AINULT ERIALASEKS KASUTAMISEKS



www.cytocell.com

Lisateave ja muud keeled on saadaval aadressil www.ogt.com

Piirangud

Seade on loodud tuvastama murdepunktidega ümberkorraldusi sondikomplekti punase, roheline ja sinise klooniga seotud piirkonnas, mis sisaldab EVI1 (MECOM) piirkonda. Piirkonnast väljajäävaid murdepunkte või alternatiivseid ümberkorralduste variante, mis jäävad selle piirkonna sisse, ei pruugita selle tootega tuvastada.

See analüüs pole ette nähtud kasutamiseks iseseisva diagnostilise vahendina, prenataalseks analüüsiks, populatsioonipõhiseks skriininguks, patsiendilähedaseks analüüsiks või iseenalal analüüsiks. See toode on ette nähtud vaid erialaseks laboratoorseks kasutamiseks; kõiki tulemusi tuleks tõlgendada vastava väljaõppega personali poolt võttes arvesse teisi asjakohaseid analüüsitulemusi.

Seda toodet ei ole valideeritud kasutamiseks muude proovituüpide ega haigustüüpide korral, kui ainult nende, mis on kasutusotstarbes täpsustatud. FISH-i tulemuste tõlgendamine ja teavitamine peab vastama erialaste kutsestandarditele ja peaks arvesse võtma muud kliinilist ja diagnostilist teavet. See komplekt on ette nähtud muude laboratoorse analüüside täiendamiseks ja ravi ei tohiks alustada, põhinedes vaid FISH-i tulemustel.

Protokolli järgimata jätmine võib mõjutada analüüsi toimivust ja põhjustada valepositiivseid/negatiivseid tulemusi.

Seda komplekti ei ole valideeritud kasutamiseks muul kui kasutusotstarbes esitatud eesmärgil.

Kasutusotstarve

Sond CytoCell EVI1 (MECOM) Breakapart Probe on kvalitatiivne, mitteautomaatne, fluorestsents *in situ* hübriidsatsiooni (FISH) uuring, mida kasutatakse 3. kromosoomi 3q26.2 piirkonna kromosomaalsete ümberkorralduste tuvastamiseks Carnoy lahuses (3:1 metanool/atseethape) fikseeritud hematoloogiliselt tuletatud rakususpensioonides, mis pärinevad kinnitatud või kahtlustatud ägeda müeloidse leukeemia (AML) või müelodüsplastilise sündroomiga (MDS) patsientidelt.

Näidustused

See toode on loodud täiendusena teistele kliinilistele ja histopatoloogilistele uuringutele tunnustatud diagnostilistes ja kliinilistes raviteedes, kus teadmised EVI1 (MECOM) translokatsiooni oleku kohta on kliinilise ravi seisukohalt olulised.

Analüüsi põhimõte

Fluorestsents *in situ* hübriidsatsioon (FISH) on meetod DNA järjestuste tuvastamiseks metafaasi kromosoomides või fikseeritud tsütogeneetiliste proovide interfaasi tuumades. Meetod kasutab DNA sonde, mis hübriidseeritakse kogu kromosoomi või üksiku unikaalse järjestusega ning toimib G-vöödi tsütogeneetilise analüüsi 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 vastandvärvisega. Seejärel võimaldab fluorestsentsmikroskoopia hübriidseeritud sondi visualiseerimist sihtmärkmaterjalil.

Sondi teave

MECOM (MDS1 ja EVI1 komplekslookus) onkogeen asukohas 3q26.2 on sageli ümberkorraldatud müeloidset päritolu hematoloogiliste pahaloomuliste protsesside puhul.

MECOM kodeerib tsinksõrmede motiivi valku, mille ekspressioon leukeemilistes rakkudes on ebanormaalne 2–5% AML-i ja MDS-ga patsientidest¹. Reguleerimata ekspressioon on sageli põhjustatud 3q26.2 hõlmavast kromosomaalsest ümberkorraldusest, kusjuures kõige sagedasemad aberratsioonid on t(3;3)(q21;q26.2) ja inv(3)(q21q26.2)¹. Translokatsioonide ja inversioonide murdepunktid võivad oluliselt varieeruda.

Inversiooni murdepunktid sisaldavad MECOM geeni ja on selle suhtes tsentromeersed ja hõlmavad ligikaudu 600 kb. Enamus 3q26.2 translokatsioonide murdepunktidest on MECOM geeni suhtes telomeersed ja hõlmavad piirkonda, mis sisaldab MDS1 geeni telomeerset otsa ja MYNN geeni².

3q26.2 piirkonda hõlmavad kromosomaalsed ümberkorraldused on seotud müeloidsete pahaloomuliste protsesside, MECOM geeni aberrantse ekspressiooni, ebasoodsa prognoosi ja agressiivse kliinilise kuluga².

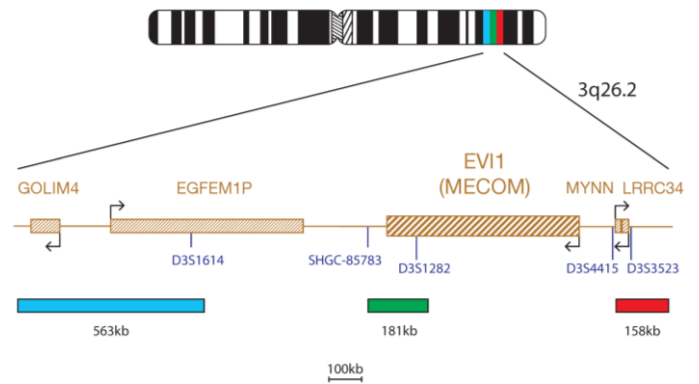
AML koos inv(3)(q21q26.2) or t(3;3)(q21;q26.2) moodustab tunnustatud haigusüksuse vastavalt Maailma Terviseorganisatsiooni (WHO) müeloidsete kasvujate ja ägeda leukeemia klassifikatsioonile. Tegude on muundunud või de novo AML-ga, millel on väga agressiivne kliiniline kulg ja aberratsioonid, mis hõlmavad MECOM-i asukohas 3q26.2 ja RPN1 (ribofoirin1) asukohas 3q21³.

MECOM-i ümberkorraldusi on leitud ka raviga seotud haigusega üle t(3;21)(q26.2;q22) translokatsiooni, mis põhjustab MECOM-RUNX1 fusiooni^{3,4}.

MECOM-i ümberkorraldused on väga heterogeensed ja võib olla raske tuvastada tavapäraste tsütogeneetiliste meetoditega, mistõttu on FISH nende tuvastamisel kasulik tööriist.

Sondi spetsifikatsioon

EV11, 3q26.2, punane
EV11, 3q26.2, roheline
EV11, 3q26.2, sinine



EV11 sondisegu punane komponent sisaldab 158 kb sonni, mis on markeri D3S4415 suhtes telomeerne ja sisaldab LRR34 geeni. Roheline komponent hõlmab 181kb piirkonda, mis sisaldab EVI1 (MECOM) geeni tsentromeerset osa ja ulatub üle markeri D3S1282. Sinine komponent hõlmab 563 kb EVI1 geeni suhtes tsentromeerset piirkonda, mis sisaldab markerit D3S1614.

Tarnitavad materjalid

Sond 50 µl viali kohta (5 analüüsi) või 100 µl viali kohta (10 analüüsi)
Sondid tarnitakse eelsegatuna hübriidseerimislahuses (formamiid; dekstraansulfaat; naatriumtsitraadi soolalahus (saline-sodium citrate, SSC)) ja on valmis kasutamiseks.

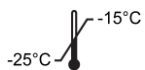
Vastandvärv 150 µl viali kohta (15 analüüsi)

Vastandvärv on DAPI, pleekimisvastane (Sisaldus: 0,125 µg/ml DAPI (4,6-diamidino-2-fenüüliindool)).

Hoiatused ja ettevaatusabinõud

1. *In vitro* diagnostiliseks kasutamiseks. Ainult erialaseks kasutamiseks.
2. DNA sonde ja DAPI vastandvärvi käsitlemisel kandke kindaid.
3. Sondi segud sisaldavad formamiidi, mis on teratogeenne; ärge hingake sisse auru ning vältige kontakti nahaga. Käsitsege ettevaatlikult; kasutage kindaid ja laborikilti.
4. DAPI on potentsiaalne kartsinogeen. Käsitsege ettevaatlikult; kasutage kindaid ja laborikilti.
5. Vabanege kõigist ohtlikest jäätmetest oma asutuse ohtlike jäätmete käitlemise eeskirjade kohaselt.
6. Kasutajad peavad olema suutelised eristama punast, sinist ja rohelist värvi.
7. Esitatud protokoll ja reaktiivide järgimata jätmine võib mõjutada analüüsi toimivust ja põhjustada valepositiivseid/valenegatiivseid tulemusi.
8. Sondi ei tohiks lahjendada ega segada teiste sondidega.
9. Sondi 10 µl kasutamata jätmise protokoll denatureerimisees etapis võib mõjutada analüüsi toimivust ja põhjustada valepositiivseid/valenegatiivseid tulemusi.

Säilitamine ja käsitsemine



Komplekti tuleks säilitada külmutatuna temperatuurivahemikus $-25...-15\text{ }^{\circ}\text{C}$ kuni kehtivusaaja lõpuni, mis on esitatud toote etiketil. Sondi ja vastandvärvi viaale tuleb säilitada pimedas.



Sond säilitab stabiilsuse normaalse kasutamise ajal esinevate sulatamise ja külmutamise tsüklite kestel (kus üks tsüklil kestab sondi eemaldamisest külmutusest kuni sinna tagasipanekuni) ja on fotostabiilne kuni 48 tundi peale pideva valgusega kokkupuudet. 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 $80\text{ }^{\circ}\text{C}$)
2. Kalibreeritud erineva mahuga mikropipetid ja otsikud vahemikus 1–200 μl
3. Vesivann, täpse temperatuuriregulaatoriga $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ ja $72\text{ }^{\circ}\text{C}$ juures
4. Mikrotsentrifuugi katsutid (0,5 ml)
5. Fluorestsentsmikroskoop (vt fluorestsentsmikroskoobi soovitusete lõiku)
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. Tsentrifuug
13. Mikroskoobi alusklaasid
14. 24x24 mm katteklasisid
15. Taimer
16. $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ inkubaator
17. Katteklaasi 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 soovitusused

Kasutage optimaalseks visualiseerimiseks 100-vatist elavhõbelampi või sellega samaväärset ning immersioonõliga apokromaatselt objektiiviga 60/63-kordse või 100-kordse suurendusega. Selles sondi kompleksis kasutatud fluordfoorid aktiveeruvad ja emiteerivad järgnevatel lainepikkustel:

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

Veenduge, et asjakohased eksitatsiooni- ja emissioonfiltrid, 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. Kasutage ühe sinise spektri läbilaskevõimega filtrit sinise spektri optimaalseks visualiseerimiseks või kolme spektri läbilaskevõimega punase spektri/roheline spektri/sinise spektri filtrit roheline, punase ja sinise fluorofoori samaaegseks visualiseerimiseks.

Kontrollige enne kasutamist fluorestsentsmikroskoopi, et veenduda selle korrasolekus. Kasutage immersioonõli, mis on fluorestsentsmikroskoopi jaoks sobiv ja on madala autofluorestsentsiga. Vältige pleekimisvastase DAPI segamist immersioonõliga, kuna see segab signaali. Järgige tootja soovitusi lambi tööaja ja filtrite vanuse kohta.

Proovi ettevalmistamine

Komplekt on loodud kasutamiseks hematoloogiliselt tuletatud rakususpensioonidega, mis on fikseeritud Carnoy lahuses (3:1 metanool/atseethape) 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 kohta⁵.

Lahuse ettevalmistamine

Etanooli lahused

Lahjendage 100% 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.

2x 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 x 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.

2x 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. **(Valikuline, kui kasutatakse tsütogeneetilist kuivatuskambrit:** slaidid tuleks valmistada tsütogeneetilist kuivatuskambrit kasutades. Optimaalseks slaidi valmistamiseks tuleks kambrit kasutada temperatuuril ligikaudu $25\text{ }^{\circ}\text{C}$ 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 külmikest 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 külmikest.
8. Asetage sond ja proovislaid 5 minutiks kuumutusplaadile eelsoojenema temperatuurile $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ ($\pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$).
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 $75\text{ }^{\circ}\text{C}$ ($\pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$) 2 minutit.

Hübriidsatsioon

11. Asetage slaid niiskesse valguskindlasse kambris temperatuurile $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ ($\pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$), laske seista üleöö.

Hübriidsatsioonijärgsed pesud

12. Eemaldage DAPI külmikest ja laske soojeneda toatemperatuurile.
13. Eemaldage ettevaatlikult katteklasisid ja kõik liimijääd.
14. Kastke slaidid 2 minutiks ilma segamata 0,4-kordsesse SSC lahusesse (pH 7,0) temperatuuril $72\text{ }^{\circ}\text{C}$ ($\pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$).
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 soovitusused**).

Valmis slaidide stabiilsus

Valmis slaidid on analüüsitavad kuni 1 kuu, kui neid hoitakse pimedas toatemperatuuril või alla selle.

Protseduuri soovitusused

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 protokoll oma proovidega optimeerima
8. Suboptimaalsed tingimused võivad põhjustada ebaspetsiifilist seondumist, mida võidakse ekslikult sondi signaalina tõlgendada

Tulemuste tõlgendamine

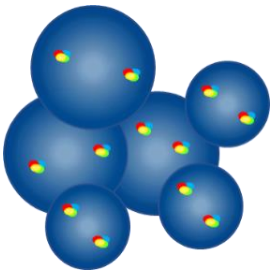
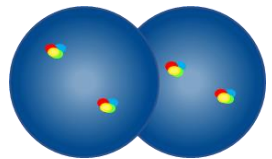
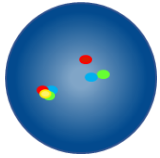
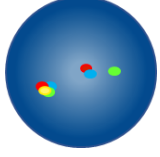
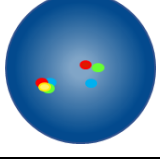
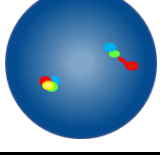
Slaidi kvaliteedi hindamine

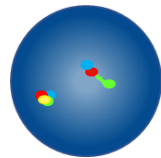
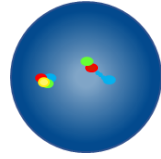
Slaidi ei tohiks analüüsida, kui

- signaalid on ühe filtriga analüüsimiseks liiga nõrgad – analüüsi jätkamiseks peaksid signaalid olema eredad, selged ja lihtsalt hinnatavad;
- liiga palju kokkukleepunud/kattuvaid rakke segavad analüüsimist;
- üle 50% rakkudest pole hübriidseeritud;
- rakkude vahel on üleliigsed fluorestsentsosakesed ja/või fluorestsentshägud, mis segab signaali – optimaalsetel slaididel peaks taust tunduma tume või must ja puhas;
- rakutuuma piire ei saa eristada ja need pole 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 paremat küljelt.
- Iga analüütik peaks hindama eraldi 100 tuuma iga proovi kohta. Esimene analüütik peaks alustama slaidi vasakult küljelt ja teine analüütik paremat 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 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 on väiksem kui kaks signaalipikkust või signaale ühendab ähmane niit, lugege signaalid üheks.
- Kui kolmevärvilise lahutatavate sondide analüüsimisel on punase, rohelse ja sinise signaali vahel tühimik väiksem kui kaks signaalipikkust, lugege see ümber korraldamata / sulandunud signaaliks.
- Kui kahtlete, kas proov on analüüsimiseks sobiv, siis ärge analüüsige seda.

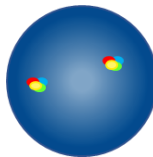
Analüüsi eeskirjad	
	Mitte lugeda, kui tuumad on piiride määramiseks üksteisele liiga lähedal
	Mitte lugeda kattuvaid tuumasid, sest mõlema tuumi kõik alasid ei ole näha
	Lugeda kahe fusioonsignaalina, kui punase ja rohelse/sinise signaali vaheline tühimik on kahest signaalipikkusest väiksem
	Lugeda kahe fusioonsignaalina, kui rohelse ja sinise/punase signaali vaheline tühimik on kahest signaalipikkusest väiksem
	Lugeda kahe fusioonsignaalina, kui sinise ja punase/rohelse signaali vaheline tühimik on kahest signaalipikkusest väiksem
	Lugeda kahe fusioonsignaalina, kui ülemise parempoolse fusiooni punane signaal on difuusne

	Lugeda kahe fusioonsignaalina, kui ülemise parempoolse fusiooni roheline signaal on difuusne
	Lugeda kahe fusioonsignaalina, kui ülemise parempoolse fusiooni sinine signaal on difuusne

Eeldatavad tulemused

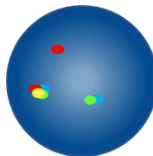
Kolme värviga strateegia näitab translokatsiooni või inversiooni esinemist ja võimaldab eristada ümberkorralduste igat erinevat tüüpi.

Eeldatav normaalne signaalimuster

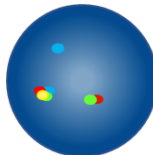


Normaalse raku eeldatav tulemus on kaks punast/rohelist/sinist kolokaliseeritud signaali (2PRS).

Eeldatavad ebanormaalsed signaalimustrid



Translokatsiooniga t(3;nn)(q21;nn) rakus on eeldatav signaalimuster üks punane, üks roheline/sinine ja üks punane/roheline/sinine fusioonsignaali (1P, 1RS, 1PRS).



Inversiooniga inv(3)(q21q26.2) rakus on eeldatav signaalimuster üks punane/roheline fusioonsignaali, üks eraldi sinine signaal ja üks punane/roheline/sinine fusioonsignaali (1PR, 1S, 1PRS).

Aneuploidsete/tasakaalustamata proovides võivad esineda teised signaalimustrid.

Teadaolev ristreaktiivsus

Teadaolev ristreaktiivsus puudub.

Kõrvalnähtudest teatamine

Kui usute, et see toode ei toimi või selle toimivus on halvenenud ning selle toimel võis esineda kõrvahäht (nt hilinevad või valediagnoos, hilinevad või ebasobiv ravi), tuleb sellest tootjat kohe teavitada (**email**: vigilance@ogt.com).

Kui see on kohandatav, tuleks sündmusest teavitada riiklikule pädevale asutusele. Pädevate ametiasutuste loend on esitatud lehel: <http://ec.europa.eu/growth/sectors/medical-devices/contacts/>.

Spetsiifilised toimivuskarakteristikud

Analüütiline spetsiifilisus

Analüütiline spetsiifilisus on vaid õige lookusega hübriidseeritud signaalide protsentarv. Analüütiline spetsiifilisus saavutati kokku 200 sihtmärk-lookuse analüüsimisel. Analüütiline spetsiifilisus arvatati, jagades õige lookusega hübriidseeritud FISH-i signaalide arvu kogu hübriidseeritud FISH-i signaali arvuga.

Tabel 1. Sond EVI1 Breakapart Probe analüütiline spetsiifilisus

Sond	Sihtmärk-lookus	Õige lookusega hübriidseeritud signaalide arv	Hübriidseeritud signaalide koguarv	Spetsiifilisus (%)
Punane EVI1	3q26	200	200	100
Roheline EVI1	3q26	200	200	100
Sinine EVI1	3q26	200	200	100

Analüütiline tundlikkus

Analüütiline tundlikkus on hinnatavate interfaasi rakkude protsent eeldatava normaalse signaalimustriga suhtes. Analüütiline tundlikkus saavutati interfaasi rakkude analüüsimisel erinevates normaalses proovides. Tundlikkus arutati hinnatavate rakkude ja eeldatava signaalimustriga protsentsuhtena (95%-lise usaldusvahemikuga).

Tabel 2. Sond EVI1 Breakapart Probe analüütiline tundlikkus

Eeldatava signaalimustriga rakkude arv	Hinnatava signaaliga rakkude arv	Tundlikkus (%)	95% usaldusvahemik
4957	5000	99,14	98,84—99,36

Normaalse väljaarvamise piirväärtuste kirjeldus

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

Normaalne väljaarvamise piirväärtus määrati proovidega, mis olid negatiivsed ümberkorralduse suhtes, mida sond peaks tuvastama, ja beeta-pöördefunktsiooniga. Iga proovi kohta salvestati 100 interfaasiraku signaalimustrid kahe sõltumatu analüütiku poolt, kokku 200 proovi kohta.

Tabel 3. Sond EVI1 Breakapart Probe normaalse väljaarvamise piirväärtuste kirjeldus

Ebanormaalne signaalimuster	Väljaarvamise piirväärtuse loomiseks analüüsitud proovide arv	Proovi kohta hinnatud tuumade arv	Max valepositiivsete signaalimustrite arv	Normaalne väljaarvamise piirväärtus (%)
1P, 1RS, 1PRS	25	200	3	4
1PR, 1S, 1PRS	25	200	3	4

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

Reprodutseeritavus

Reprodutseeritavus tehti kindlaks kolme eraldi labori poolt, kes testisid kuu 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 veel järjestikusel päeval.

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

Reprodutseeritavus arvatati, kasutades katse ajal uuritud muutujate vahelist ühilduvust.

Tabel 4. Sond EVI1 Breakapart Probe reprodutseeritavus ja täpsus

Signaal	Reprodutseeritavuse uuring	Proov	Ühilduvus (%)
Inversioon (1PR, 1S, 1PRS)	Päevasisene / päevadevaheline / asutustevaheline	Negatiivne	100
		Tugevalt positiivne	100
	Partidevaheline	Negatiivne	92
		Tugevalt positiivne	100
Translokatsioon (1P, 1RS, 1PRS)	Päevasisene / päevadevaheline / asutustevaheline	Negatiivne	100
		Tugevalt positiivne	100
	Partidevaheline	Negatiivne	100
		Tugevalt positiivne	100

Kliiniline toimivus

Kliiniline toimivus määrati, kasutades AML-i või MDS-i tõttu suunatud esindusliku valimata patsientide komplekti kogutud 100 proovi. Sondiga tuvastatud ümberkorralduste esinemismäärasid võrreldi kirjandusallikate ülevaatest kogutud andmetega.

Selle võrdluse võimaldamiseks arvatati kirjanduses esitatud usaldusvahemik 100 proovi populatsiooni suurusel, arvatades 1–proovi proportsioonide testi koos jätkuva korrigeerimisega.

Tabel 5. Sond EVI1 Breakapart Probe kliiniline toimivus

Ümberkorraldus	Levimus			
	Kirjanduse ülevaade (%)	95% LCI (%)	Kliiniline uuring (%)	95% UCI (%)
AML koos inv(3)/t(3;3)MECOM ümberkorraldustega	1,3	0,1	4	6,7
MDS koos MECOM ümberkorraldustega	0,4	0		5,3

Lisateave

Lisateavet saate kontakteerudes ettevõtte CytoCell tehnilise toe osakonnaga.

Tel: +44 (0)1223 294048

E-mail: techsupport@cytoCELL.com

W: www.ogt.com

Viited

- Soderholm *et al.*, Leukemia 1997;11:352-358
- Bobadilla *et al.*, Br J Haematol 2007;136:806-813
- Swerdlow *et al.*, (eds.) WHO Classification of Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissue, Lyon, France, 4th edition, IARC, 2017
- Pedersen-Bjergaard *et al.*, Leukemia 2008;22:240-248
- Arsham, MS., Barch, M.J. 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 seletus

REF	et: Kataloogi number
IVD	et: <i>In vitro</i> diagnostiline meditsiiniseade
LOT	et: Partii number
	et: Vt kasutusjuhised
	et: Tootja
	et: Kõlblik kuni
	et: Temperatuuripiirang
	et: Hoidke päikesevalguse eest kaitstult
	et: Sisaldus piisav <n> analüüsi jaoks
CONT	et: Sisu

Patendid ja kaubamärgid

CytoCell on CytoCell Ltd registreeritud kaubamärk.



CytoCell Ltd.

3-4 Technopark

Newmarket Road

Cambridge, CB5 8PB, UK.

Tel: +44(0)1223 294048

Faks: +44(0)1223 294986

E-mail: probes@cytoCELL.com

W: www.ogt.com