



A Sysmex Group Company



Käyttöohje

REF: CE-LPH 036-S / CE-LPH 036

EV11 (MECOM) Breakapart Probe



VAIN AMMATTIKÄYTTÖÖN



Lisätietoja ja muita kieliä saatavilla osoitteesta ogt.com/IFU

Käyttötarkoitus

CytoCell® EV11 (MECOM) Breakapart Probe -koetin on kvalitatiivinen, ei-automatisoitu FISH (fluorescence *in situ* hybridisation) -testi, jota käytetään kromosomien uudelleenjärjestymien havaitsemiseen kromosomin 3 alueella 3q26.2 Carnoy'n luokseen (3:1 metanoli/etikahappo) fiksoiduille, hematologisesti johdetuille solususpensioille potilailta, joilla on vahvistettu tai epäilty akuutti myeloinen leukemia, johon liittyy MECOM-uudelleenjärjestymä (AML) tai myelodysplastisia neoplasmoja (MDS).

Käyttöaiheet

Tämä laite on suunniteltu käytettäväksi muiden kliinisten ja histopatologisten testien lisäksi vakiintuneissa diagnostiikan ja kliinisen hoidon hoitopoluissa, joissa MECOM-uudelleenjärjestymän tilan tunteminen olisi tärkeää kliiniselle hoidolle.

Rajoitukset

Laite on suunniteltu havaitsemaan uudelleenjärjestymiä, joissa on katkoskohtia tämän koetinsarjan punaisten, vihreiden ja sinivihreiden kloonien sitomilla alueilla, joihin sisältyvät MECOM-alue (vihreä koetin), MECOM-geeniin nähden telomeerinen alue (punainen koetin) ja MECOM-geeniin nähden sentromeerinen alue (sinivihreä koetin). Tämä laite ei ehkä havaitse kyseisten alueiden ulkopuolisia katkoskohtia tai vaihtoehtoisia uudelleenjärjestymiä, jotka sisältyvät kokonaisuudessaan tälle alueelle.

Tätä laitetta ei ole tarkoitettu käytettäväksi riippumattomaan diagnostiikkaan, kytkösdiaagnostiikkana, raskausajan tutkimuksiin, väestöpohjaiseen seulontaan, veritestaukseen tai itsetestaukseen.

Tätä laitetta ei ole validoitu muille kuin käyttötarkoituksessa ilmoitetuille näytetyypeille, tautityypeille tai käyttökohteille.

Se on tarkoitettu muiden diagnostisten laboratoriotestien apuvälineeksi, eikä hoitotoimia saa käynnistää yksinomaan FISH-tuloksen perusteella.

Soveltuvan pätevyyden saaneen henkilöstön tekemän FISH-tulosten raportoinnin ja tulkinnan on oltava yhdenmukainen ammattimaisten käytäntöstandardien kanssa, ja niissä on otettava huomioon muut olennaiset testitulokset ja kliiniset ja diagnostiset tiedot.

Tämä laite on tarkoitettu vain ammattikäyttöön laboratoriossa.

Mikäli protokollaa ei noudateta, se saattaa vaikuttaa suorituskykyyn ja johtaa virheellisiin positiivisiin/negatiivisiin tuloksiin.

Testin periaatteet

Fluoresenssi *in situ* -hybridisaatio (FISH) on tekniikka, jonka avulla DNA-sekvenssejä voidaan havaita metafaasikromosomeista tai fiksoitujen sytogeneettisten näytteiden interfaasitumista. Tekniikassa käytetään DNA-koettimia, joiden avulla hybridisaatio koskee kokonaisia kromosomeja tai yksittäisiä, ainutkertaisia sekvenssejä ja jotka toimivat tehokkaana sytogeneettisen G-raita-analyysin apuvälineenä. Tätä tekniikkaa voidaan nyt käyttää olennaisena tutkimustyökaluna raskauden aikaiseen, hematologiseen ja kiinteiden tuumorien kromosomianalyysiin. Kohde-DNA on fiksaation ja denaturaation jälkeen saatavilla palautumiseksi samalla tavoin denaturoitua, fluoresenssimerkittyä DNA-koettimeen, jolla on täydentävä sekvenssi. Hybridisaation jälkeen sitomaton ja muu

kuin spesifisesti sidottu DNA-koetin poistetaan, ja DNA vastavärijätään visualisointia varten. Sen jälkeen hybridisoitu koetin voidaan visualisoida fluoresenssimikroskopian avulla kohdemateriaalissa.

Koettimen tiedot

MECOM (MDS1- ja EV11-kompleksin lokus) -onkogeneeni paikassa 3q26.2 on usein uudelleenjärjestynyt hematologisissa syövissä, jotka ovat lähtöisin imusolmukkeesta, kuten myelodysplastisissa neoplasmoissa (MDS) ja akuutissa myeloidisessa leukemiassa, johon liittyy MECOM-uudelleenjärjestymä (AML). Sen ilmentyminen neoplastisissa luuydinsoluissa häiritsee myelooista erilaistumista, solukierron säätelyä ja solujen signalointireittejä¹.

Tämä dereguloitu ilmentyminen johtuu usein kromosomien uudelleenjärjestymisestä, jossa on mukana 3q26.2, ja kaksi yleisintä (n. 40 %) poikkeusta ovat t(3;3)(q21;q26.2) ja inv(3)(q21q26.2)¹. Yli 30 muuta 3q26.2-uudelleenjärjestymistä on kuvattu, useimmat niistä tyypillisesti molekyyllisellä¹.

Translokaatioiden ja inversioiden katkoskohdat vaihtelevat huomattavasti. MECOM-uudelleenjärjestymät ovat hyvin heterogeenisiä, ja niitä voi olla vaikea havaita perinteisen sytogenetiikan keinoin, jolloin FISH on hyödyllinen työkalu niiden havaitsemiseen. Vaihtoehtoiset t(3;v)(q26.2;v)-katkoskohtien alueet voivat ulottua kohdasta, joka on 3' MECOMin proksimaalipuolella, kohtaan, joka on 5' MDS1-EV11-edistäjän distaalipuolella, ja alueen kattaa vihreä koetin. Siksi näiden translokaatioiden odotettu signaalkuvio vaihtelee katkoskohdan mukaan². MECOM-uudelleenjärjestymien testaaminen on suositeltavaa sekä MDS- että AML-tapauksissa³.

AML, johon liittyy MECOM-uudelleenjärjestymä, on aggressiivinen sairaus, jossa selviytyminen on lyhyt riippumatta blastien osuudesta ja hoitotuloksilla ei ole eroa inv(3)/t(3;3)-tapausten välillä verrattuna MECOM-uudelleenjärjestymiin muiden partnerien kanssa¹. MDS-riskiluokitus käsittää muuttujia, kuten ikä, sytopenioiden vakavuus ja sytogeneettiset löydökset¹.

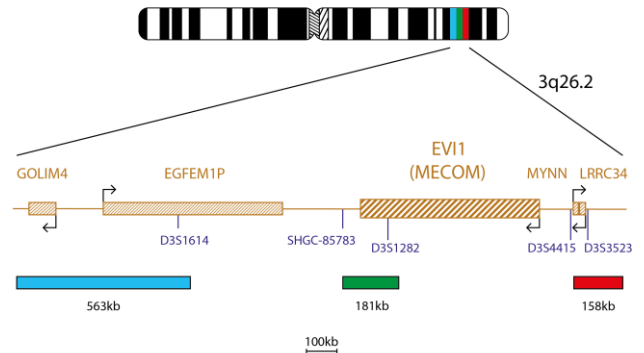
Koettimen tekniset tiedot

EV11, 3q26.2, punainen

EV11, 3q26.2, vihreä

EV11, 3q26.2, sinivihreä

CMP-H021 v008.00



EV11-koetinseoksen punainen komponentti sisältää 158 kb:n koettimen, joka on telomeerinen D3S4415-markkerille ja sisältää LRR34-geenin. Vihreä komponentti kattaa 181 kb:n alueen, johon sisältyy EV11 (MECOM) -geenin sentromeerinen osa ja joka ylittää D3S1282-markkerin yli. Sinivihreä komponentti kattaa 563 kb:n alueen EV11-geenin sentromeerisella puolella, johon sisältyy D3S1614-markkeri.

Toimitettavat materiaalit

Koetin: 50 µl pulloa kohti (5 testiä) tai 100 µl pulloa kohti (10 testiä)

Koettimet toimitetaan ennalta sekoitettuna hybridisaatioliuokseen (< 65 % formamidia, < 20 mg dekstraanisulfaattia, < 10 % 20x suolaliuos-natriumsitraattia (SSC)), ja ne ovat valmiita käytettäväksi.

Vastaväri: 150 µl pulloa kohti (15 testiä)

Vastaväri on DAPI Antifade ES (0,125 µg/ml DAPI (4,6-diamiini-2-fenyyli-indoli) glyserolipohjaisessa preparointiaineessa).

Varoitukset ja varoimet

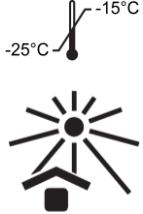
- In vitro* -diagnostiseen käyttöön. Vain ammattikäyttöön laboratoriossa.
- Koetinseokset sisältävät formamidia, joka on teratogeeni: älä hengitä höyryä sisään tai päästä ainetta kosketuksiin ihon kanssa. Käsiteltävä varoen: käytä käsineitä ja laboratoriotakkia.
- Käsittele DAPIa varoen: käytä käsineitä ja laboratoriotakkia.
- Ei saa käyttää, jos pullo on vaurioitunut tai jos pullon sisältö on voinut vahingoittua millään tavalla.
- Hävitä tämä tuote turvallisesti noudattaen hävittämistä koskevia paikallisia määräyksiä ja käyttöturvallisuustiedotteessa annettuja suosituksia. Tämä koskee myös vahingoittunutta testisarjan sisältöä.
- Hävitä kaikki käyttämätön reagenssi ja muu kontaminoitunut kertakäyttömateriaali tartuntavaarallista tai mahdollisesti tartuntavaarallista jätettä koskevien ohjeistusten mukaisesti. Kunkin laboratorion vastuulla on käsitellä kiinteää ja nestemäistä jätettä sen luonteen ja vaarallisuusasteen mukaisesti ja noudattaa sen käsittelyssä ja hävittämisessä sovellettavia määräyksiä (tai varmistaa niiden noudattaminen).
- Käyttäjien on pystyttävä erottamaan toisistaan punainen, sininen ja vihreä.

- Mikäli hahmoteltua protokollaa ei noudateta ja sen mukaisia reagensseja ei käytetä, se saattaa vaikuttaa suorituskykyyn ja johtaa virheellisiin positiivisiin/negatiivisiin tuloksiin.
- Koetinta ei saa laimentaa tai sekoittaa muiden koetinten kanssa.
- Mikäli 10 µl:n koetinta ei käytetä protokollan esidenaturaatiovaiheessa, se saattaa vaikuttaa suorituskykyyn ja johtaa virheellisiin positiivisiin/negatiivisiin tuloksiin.
- Kaikki tuotteet on validoitava ennen käyttöä.
- Sisäiset kontrollit on suoritettava käyttämällä muuttumattomia solupopulaatioita testinäytteissä.

Lämpötilojen tarkemmat määritelmät

- 20 °C / pakastettu / pakastimessa: -25...-15 °C
- 37 °C: +37 °C ±1 °C
- 72 °C: +72 °C ±1 °C
- 75 °C: +75 °C ±1 °C
- Huoneenlämpötila: +15...+25 °C

Säilytys ja käsittely



Sarjaa on säilytettävä pakastimessa -25...-15 °C:n lämpötilassa sarjan etiketissä ilmoitettuun eräpäivään saakka. Koetinta ja vastaväripulloja on säilytettävä pimeässä.

FISH-koetin, DAPI Antifade ES -vastaväri ja hybridisaatioliuos pysyvät stabiileina normaalissa käytössä tapahtuvien pakastus- ja sulatusjaksojen ajan (kun yhden jakson aikana pullo poistetaan pakastimesta ja laitetaan takaisin pakastimeen) – 5 jaksoa 50 µl:n (5 testin) pullolle FISH-koetinta, 10 jaksoa 100 µl:n (10 testin) pullolle FISH-koetinta ja 15 jaksoa 150 µl:n (15 testin) pullolle vastaväriä. Altistumista valolle on vältettävä ja minimoitava mahdollisuuksien mukaan. Säilytä komponentteja pakkauksen sisältämässä valonpitävässä säiliössä. Komponentit, joita on käytetty ja säilytetty pakkausmerkintöjen ohjeista poikkeavissa olosuhteissa, eivät välttämättä toimi odotetulla tavalla ja saattavat vääristää määrittäksen tuloksia. Valolle ja lämpötilan muutoksille altistumista on rajoitettava kaikin mahdollisin keinoin.

Tarvittavat laitteet ja materiaalit, jotka eivät sisälly pakkaukseen

Kalibroituja laitteistoja on käytettävä:

- Lämpölevy (kiinteällä levyllä ja tarkalla lämpötilan hallinnalla 80 °C:n lämpötilaan saakka)
- Kalibroidut tilavuudeltaan vaihtelevat mikropipetit ja kärjet, 1–200 µl
- Vesikylypöytä tarkalla lämpötilan hallinnalla 37 °C:n ja 72 °C:n lämpötilassa
- Mikrosentrifugiputket (0,5 ml)
- Fluoresenssimikroskooppi (katso Fluoresenssimikroskooppisuositus-osio)
- Vaihekontrastimikroskooppi
- Coplin-purkit puhdasta muovia, keramiikkaa tai lämmönkestävää lasia
- Pihdit
- Kalibroitu pH-mittari (tai pH-indikaattoriliuskat, joilla voidaan mitata 6,5–8,0:n pH-arvo)
- Kostutettu säiliö
- Fluoresenssiluokan mikroskooppilinsin immersioöljy
- Työpöytäsentrifugi
- Mikroskooppiobjektiivilasi
- 24 x 24 mm:n peitelasit
- Ajastin
- 37 °C:n inkubaattori
- Kumiliuosliima
- Pyörresekoitin
- Mittasylinteri
- Magneettinen sekoitin
- Kalibroitu lämpömittari

Valinnainen laitteisto, ei sisälly pakkaukseen

- Sytogeneettinen kuivauskammio

Tarvittavat reagenssit, jotka eivät sisälly pakkaukseen

- 20x suolaliuos-natriumsitraattiliuos (SSC)
- 100-prosenttinen etanoli
- Tween-20
- 1M natriumhydroksidi (NaOH)
- 1M suolahappo (HCl)
- Akkuvesi

Fluoresenssimikroskooppisuositus

Käytä 100 watin elohopealamppua tai vastaavaa ja öljyimmersionsuunnitelman 60/63x- tai 100x-apokromaattiobjektiiveja parhaaseen mahdolliseen visualisointiin. Tässä koetinsarjassa käytettävät loisteaineet virittyvät ja säteilevät seuraavilla aallonpituuksilla:

Loisteaine	Viritysmaks [nm]	Emissiomaks [nm]
Sinivihreä	418	467
Vihreä	495	521
Punainen	596	615

Varmista, että mikroskooppiin on sovitettu asianmukaiset viritys- ja emissiosuodattimet, jotka kattavat yllä luetellut aallonpituuudet.

Käytä sinivihreän spektrin yksinkertaista kaistanpäästösuodatinta sinivihreän spektrin optimaaliseen visualisointiin tai punaisen spektrin / vihreän spektrin / sinivihreän spektrin kolmoisikaistanpäästösuodatinta vihreän, punaisen ja sinivihreän loisteaineiden samanaikaiseen visualisointiin.

Tarkista fluoresenssimikroskooppi ennen käyttöä varmistaaksesi, että se toimii asianmukaisesti. Käytä immersioöljyä, joka soveltuu fluoresenssimikroskooppille ja jonka koostumus on tarkoitettu alhaiselle automaattiselle fluoresenssille. Vältä häipymistä ehkäisevän DAPI:n sekoittamista mikroskoopin immersioöljyn kanssa, sillä se hämärtää signaaleita. Noudata valmistajien suosituksia lampun käyttööän ja suodatinten iän suhteen.

Näytteen valmistelu

Sarja on suunniteltu käytettäväksi Carnoy'n liuokseen (3:1 metanoli/etikahappo) fiksoituihin, hematologisesti johdettuihin solususpensioihin, jotka on otettu potilailta, joilla on vahvistettu tai epäilty akuutti myeloinen leukemia (AML) tai myelodysplastisia neoplasmoja (MDS), ja valmisteltu laboratorion tai laitoksen suuntaviivojen mukaisesti. Valmistele ilmakuivatut näytteet mikroskooppiobjektiivilaseille sytogeneettisten vakiotoimenpiteiden mukaisesti. AGT-sytogeneetikallaboratorion opaskirja sisältää suosituksia näytteen keräämisestä, viljelystä, poiminnasta ja objektiivilasiin valmistelusta⁴.

Liuoksen valmistus

Etanoliuokset

Laimenna 100-prosenttinen etanoli akkuvedellä seuraavissa suhteissa ja sekoita huolellisesti:

- 70 % etanolia – 7 osaa 100-prosenttistä etanolia ja 3 osaa akkuvedettä
 - 85 % etanolia – 8,5 osaa 100-prosenttistä etanolia ja 1,5 osaa akkuvedettä
- Säilytä liuosta enintään 6 kuukautta huoneenlämpötilassa ilmatiiviissä säiliössä.

2 x SSC-liuos

Laimenna 1 osa 20 x SSC-liuosta 9 osaan akkuvedettä ja sekoita huolellisesti. Tarkista pH ja säädä pH-arvoon 7,0 käyttämällä natriumhydroksidia tai suolahappoa tarpeen mukaan. Säilytä liuosta enintään 4 viikkoa huoneenlämpötilassa ilmatiiviissä säiliössä.

0,4 x SSC-liuos

Laimenna 1 osa 20 x SSC-liuosta 49 osaan akkuvedettä ja sekoita huolellisesti. Tarkista pH ja säädä pH-arvoon 7,0 käyttämällä natriumhydroksidia tai suolahappoa tarpeen mukaan. Säilytä liuosta enintään 4 viikkoa huoneenlämpötilassa ilmatiiviissä säiliössä.

2 x SSC, 0,05-prosenttinen Tween-20-liuos

Laimenna 1 osa 20 x SSC-liuosta 9 osaan akkuvedettä. Lisää 5 µl Tween-20-liuosta 10 ml kohti ja sekoita huolellisesti. Tarkista pH ja säädä pH-arvoon 7,0 käyttämällä natriumhydroksidia tai suolahappoa tarpeen mukaan. Säilytä liuosta enintään 4 viikkoa huoneenlämpötilassa ilmatiiviissä säiliössä.

FISH-protokolla

(Huomautus: Varmista, että koettimen ja vastavärin altistuminen laboratoriovalolle on aina rajallista).

Objektiivilasin valmistelu

- Laita pisara solunäytettä mikroskooppiobjektiivilasilille. Anna kuivua. (Valinnaista, jos käytetään sytogeneettistä kuivauskammiota: Kammiota on käytettävä noin 25 °C:n lämpötilassa ja 50 %:n kosteudessa, jotta solunäytepisara voidaan asettaa optimaalisesti lasille. Mikäli sytogeneettistä kuivauskammiota ei ole saatavilla, käytä vaihtoehtoisesti vetokaappia.)
- Upota objektiivilasi 2 x SSC-liuokseen 2 minuutiksi huoneenlämpötilassa ravistamatta.
- Kuivaa kutakin etanolisarjassa (70 %, 85 % ja 100 %) 2 minuuttia huoneenlämpötilassa.
- Anna kuivua.

Esidenaturaatio

- Poista koetin pakastimesta ja anna sen lämmetä huoneenlämpötilaan. Sentrifugoi putkia lyhyen aikaa ennen käyttöä.
- Varmista, että koetinliuos on sekoitettu yhtenäisesti pipetillä.
- Poista 10 µl koetinta testiä kohti ja siirrä se mikrosentrifugiputkeen. Palauta jäljelle jäänyt koetin nopeasti pakastimeen.
- Aseta koetin ja näyteobjektiivilasi esilämpimään 37 °C:n (+/- 1 °C) lämpölevylle 5 minuutiksi.
- Laita 10 µl koetinseosta solunäytteelle ja aseta peitelasi varoen paikalleen. Sulje kumiliuosliimalla ja anna liiman kuivua täysin.

Denaturaatio

- Denaturoi näyte ja koetin samanaikaisesti kuumentamalla objektiivilasia lämpölevyllä 2 minuutin ajan 75 °C:n (+/- 1 °C) lämpötilaan.

Hybridisaatio

- Laita objektiivilasi yöksi kosteaan valonkestävään säiliöön 37 °C:n (+/- 1 °C) lämpötilaan.

Hybridisaation jälkeiset pesut

- Poista DAPI pakastimesta ja anna sen lämmetä huoneenlämpötilaan.
- Poista peitelasi ja kaikki liimajäljet huolellisesti.
- Upota objektiivilasi 0,4 x SSC-liuokseen (pH 7,0) 2 minuutiksi 72 °C:n (+/- 1 °C) lämpötilassa ravistamatta.
- Tyhjennä objektiivilasi ja upota se 30 sekunniksi 2 x SSC:tä ja 0,05 % Tween-20:tä sisältävään liuokseen huoneenlämpötilassa (pH 7,0) ravistamatta.
- Tyhjennä objektiivilasi ja laita kuhunkin näytteeseen 10 µl häipymistä ehkäisevää DAPIa.
- Peitä peitelasilla, poista mahdolliset kuplat ja anna värin kehittyä pimeässä 10 minuuttia.
- Tarkastele fluoresenssimikroskoopilla (katso Fluoresenssimikroskooppisuositus).

Toimenpidesuosittukset

1. Objektiiviliasien sintraaminen tai ikäännyttäminen saattaa heikentää signaalien fluoresenssia.
2. Muiden kuin Cytozell Ltd. -yhtiön toimittamien tai suosittelemien reagenssien käyttö saattaa vaikuttaa haitallisesti hybridisaatio-olosuhteisiin.
3. Käytä liuosten, vesikylpöjen ja inkubaattorien lämpötilojen mittaukseen kalibroitua lämpömittaria, sillä nämä lämpötilat ovat ratkaisevan tärkeitä tuotteen optimaalisen suorituskyvyn kannalta.
4. Pesupitoisuudet, pH-arvo ja lämpötilat ovat tärkeitä, sillä liiallinen löyhyys saattaa johtaa koettimen epäspesifiseen sitoutumiseen ja liiallinen ankaruus signaalin puuttumiseen.
5. Epätäydellinen denaturaatio saattaa johtaa signaalin puuttumiseen ja liiallinen denaturaatio saattaa myös johtaa epäspesifiseen sitoutumiseen.
6. Liiallinen hybridisaatio saattaa johtaa ylimääräisiin tai odottamattomiin signaaleihin.
7. Käyttäjien on optimoitava omien näytteidensä protokolla ennen testin käyttöä diagnostiisiin tarkoituksiin.
8. Suboptimaaliset olosuhteet saattavat johtaa epäspesifiseen sitoutumiseen, jotka saatetaan tulkita koetinsignaaleiksi.

Tulosten tulkitseminen

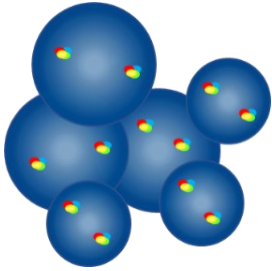
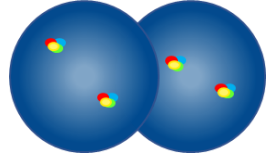
Objektiiviliasin laadun arviointi

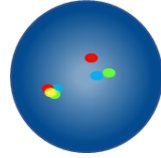
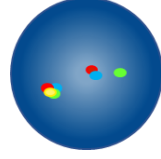
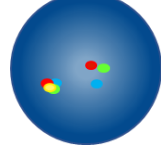
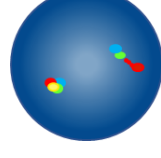
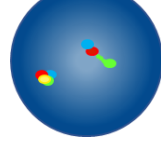
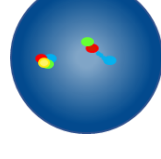
Objektiiviliasia ei tarvitse analysoida, jos:

- yksittäisten suodatintien signaalit ovat liian heikkoja analysoitavaksi – jotta analyysia voidaan jatkaa, signaalien on näytävä kirkkaina, selkeinä ja helposti arvioitavina
- analyysia vaikeuttaa suuri määrä yhteen kasautuneita / päällekkäisiä soluja
- > 50 % soluista ei ole hybridisoituneita
- solujen välissä on liikaa fluoresoivia hiukkasia ja/tai fluoresoivaa utua, joka häiritsee signaaleita – optimaalisissa objektiiviliasissa taustan pitäisi näkyä tummana tai mustana ja puhtaana
- solun tumen rajoja ei voida erottaa, eivätkä ne ole eheitä.

Analysointiohjeet

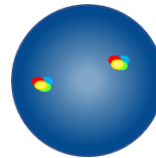
- Kahden analyytikon pitäisi analysoida ja tulkita jokainen näyte. Kaikki erivyydet on annettava kolmannen analyytikon arvioitavaksi.
- Jokaisella analyytikolla on oltava sopiva pätevyys tunnustettujen kansallisten standardien mukaan.
- Jokaisen analyytikon pitäisi saada riippumattomasti 100 tumaa kustakin näytteestä. Ensimmäisen analyytikon pitäisi käynnistää analyysi objektiiviliasin vasemmalta puolelta ja toisen analyytikon oikealta puolelta.
- Kunkin analyytikon on dokumentoitava tuloksiaan erillisillä arkeilla.
- Analysoi vain eheitä tumia, ei päällekkäisiä tai yhteen kasautuneita tumia tai sellaisia tumia, jotka ovat sytoplasmajätteen peitossa tai joissa on runsaasti autofluoresenssia.
- Vältä alueita, joilla on liiallista sytoplasmajätettä tai epäspesifistä hybridisaatiota.
- Signaalin intensiteetti saattaa vaihdella yksittäisenkin tumen kohdalla. Käytä tällaisissa tapauksissa yksittäisiä suodatintumia ja/tai säädä fokustasoa.
- Suboptimaalisissa olosuhteissa signaalit saattavat näyttää hajanaisilta. Jos kaksi samanväristä signaalia koskettaa toisiaan, jos niiden välinen etäisyys on enintään yhtä suuri kuin kahden signaalin leveys tai jos kahta signaalia yhdistää heikko säie, katso ne yhdeksi signaaliksi.
- Analysoitaessa kolmivärisiä irrotettavia koettimia signaalit on laskettava muiksi kuin uudelleenjärjestyneiksi/fuusioituneiksi, jos jonkin kolmesta signaalista (punainen, vihreä, sinivihreä) välissä on enintään kahden signaali-levyden kokoinen rako.
- Mikäli on epäilystä siitä, voidaanko solu analysoida, älä analysoi sitä.

Analysointiohjeet	
	Älä laske – tumat ovat liian lähekkäin, jotta rajoja voisi määrittää
	Älä laske päällekkäisiä tumia – kummankin tumen kaikki alueet eivät ole näkyvissä

	Laske kahdeksi fuusiosignaaliiksi – punaisen ja vihreän/sinivihreän signaalin välinen rako on pienempi kuin kaksi koettimen leveyttä
	Laske kahdeksi fuusiosignaaliiksi – vihreän ja punaisen/sinivihreän signaalin välinen rako on pienempi kuin kaksi koettimen leveyttä
	Laske kahdeksi fuusiosignaaliiksi – sinivihreän ja punaisen/vihreän signaalin välinen rako on pienempi kuin kaksi koettimen leveyttä
	Laske kahdeksi fuusiosignaaliiksi – punainen signaali on hajanainen oikeanpuoleisessa yläfuusiossa
	Laske kahdeksi fuusiosignaaliiksi – vihreä signaali on hajanainen oikeanpuoleisessa yläfuusiossa
	Laske kahdeksi fuusiosignaaliiksi – sinivihreä signaali on hajanainen oikeanpuoleisessa yläfuusiossa

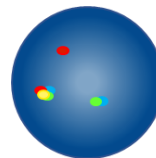
Odottavissa olevat tulokset

Odottavissa oleva normaali signaalikuviot

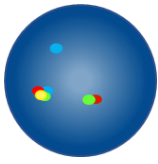


Tavallisessa solussa odottavissa on kaksi punaista/vihreää/sinivihreää fuusiosignaalia (2PVS).

Odottavissa olevat epänormaalit signaalikuviot



Solussa, jossa on t(3;3)(q21;26.2) tai t(3;v)(q26.2;v) ja katkoskohdat vihreän koettimen distaalipuolella, odottavissa oleva signaalikuviot on yksi punainen/vihreä/sinivihreä fuusiosignaali, yksi vihreä/sinivihreä fuusiosignaali ja yksi punainen signaali (1PVS1VS1P).



Solussa, jossa on inv(3)(q21q26.2) tai t(3;v)(q26.2;v) ja katkoskohdat vihreän koettimen proksimaalipuolella, odotettavissa oleva signaalikuvio on yksi punainen/vihreä/sinivihreä fuusiosignaali, yksi punainen/vihreä fuusiosignaali ja yksi sinivihreä signaali (1PVS1PV1S).

Muut signaalikuviot ovat mahdollisia aneuploidisissa/epätasapainoisissa näytteissä.

Tunnetut olennaiset häiriöt / häiritsevät aineet

Ei tunnettuja olennaisia häiriöitä / häiritseviä aineita.

Ei tunnettua ristireaktiivisuutta.

Vakavista vaaratilanteista ilmoittaminen

Potilaan / käyttäjän / kolmannen osapuolen, joka on Euroopan unionissa tai maassa, jossa on vastaava säädös (asetus (EU) 2017/746 *in vitro*-diagnostisista lääkinnällisistä laitteista), on ilmoitettava valmistajalle ja kansalliselle toimivaltaiselle viranomaiselle, mikäli tämän laitteen käytön aikana tai sen käytön seurauksena tapahtuu vakava vaaratilanne.

Muissa maissa tapahtuneista vakavista vaaratilanteista on ilmoitettava valmistajalle ja soveltuvin osin kansalliselle toimivaltaiselle viranomaiselle.

Valmistajan yhteystiedot vaaratilanteissa: vigilance@ogt.com

Luettelo vaaratilanteita käsittelevien EU:n kansallisten toimivaltaisten viranomaisten yhteystiedoista on seuraavassa osoitteessa:

https://health.ec.europa.eu/medical-devices-sector/new-regulations/contacts_en

Erityiset suorituskykyominaisuudet

Analyttinen spesifisyys

Analyttinen spesifisyys on niiden signaalien prosenttiosuus, jotka hybridisoidaan oikeaan lokukseen eikä muihin sijainteihin. Kaksi kromosomin lokusta jokaisessa 20 metafaasisolussa analysoidiin viidestä näytteestä, jolloin saatiin 200 tietopistettä komponenttia kohti. Jokaisen hybridisoituneen koettimen paikka kartoitettiin, ja oikeaan lokukseen hybridisoituneiden metafaasikromosomien FISH-signaalien lukumäärä kirjattiin.

Kunkin sarjan koettimen analyttinen spesifisyys laskettiin sellaisten metafaasikromosomien FISH-signaalien määräksi, jotka hybridisoituvat oikeaan lokukseen, jaettuna hybridisoituneiden metafaasikromosomien FISH-signaalien kokonaismäärällä. Tulos kerrottiin 100:lla, ilmaistiin prosenttilukuna ja sille määritettiin 95 %:n luottamusväli.

Taulukko 1. EV11 (MECOM) Breakapart Probe -koettimen analyttinen spesifisyys

Kohde	Hybridisoituneiden metafaasikromosomien lukumäärä	Oikein hybridisoituneiden lokusten lukumäärä	Analyttinen spesifisyys	95 %:n luottamusväli
3q26.2	200	200	100 %	98,12–100 %
3q26.2	200	200	100 %	98,12–100 %
3q26.2	200	200	100 %	98,12–100 %

Analyttinen herkkyys

Analyttinen herkkyys on niiden tulosten laskennassa käytettävien interfaasisolujen prosenttiosuus, joiden odotettavissa oleva signaalikuvio on normaali. Vähintään 200 interfaasisolua analysoidiin jokaisesta 25 fiksoidusta luuydinsolususpensiosta, ja ne katsottiin negatiivisiksi MECOM- uudelleenjärjestymän osalta, jolloin saatiin vähintään 5 000 tumaa näytetyppiä kohden. Herkkyydetiedot analysoidiin niiden solujen prosenttimäärän perusteella, jotka osoittivat normaalia odotettavissa olevaa signaalikuviota, ja tulos ilmaistiin prosenttiosuudella sekä 95 %:n luottamusväillä.

Taulukko 2. EV11 (MECOM) Breakapart Probe -koettimen analyttinen herkkyys

Näytteen tyyppi	Herkkyuden kriteerit	Herkkyuden tulos
Luuydin	> 95 %	99,14 % (98,89–99,39 %)

Normaalien raja-arvojen luokittelu

Normaaliksi raja-arvoksi määritettiin niiden solujen prosenttiosuus, joissa esiintyi väärä positiivinen signaalikuvio, jolloin henkilöä pidettäisiin normaalina eikä kliinisen diagnoosin mukaisena. Vähintään 200 interfaasisolua analysoidiin jokaisesta 25 luuydinnäytteestä, ja ne katsottiin negatiivisiksi MECOM- uudelleenjärjestymän osalta, jolloin saatiin vähintään 5 000 tumaa näytetyppiä kohden.

Raja-arvo määritettiin käyttämällä MS Excelin käänteistä β -funktiota (BETAINV). Se laskettiin niiden interfaasisolujen prosenttiosuutena, joissa ilmeni väärä positiivinen signaalikuvio, käyttämällä tavallisen potilasnäytteen binomijakauman yksipuolisen 95 %:n luottamusvälin ylärajaa.

Taulukko 3. EV11 (MECOM) Breakapart Probe -koettimen normaalien raja-arvojen luokittelu

Näytteen tyyppi	Raja-arvojen tulos
Luuydin	4 %

Laboratorioiden on tarkistettava raja-arvot käyttämällä omia tietoaan^{5,6}.

Uusittavuus

Uusittavuustutkimuksilla selvitettiin

- kolmen testauspaikan päivän sisäinen uusittavuus (näytteestä toiseen)
- kolmen testauspaikan päivien välinen uusittavuus (päivästä toiseen)
- kolmen testauspaikan testauspaikkojen välinen uusittavuus (testauspaikasta toiseen)
- yhden testauspaikan erien välinen uusittavuus (erästä toiseen).

Uusittavuus määritettiin kolmessa erillisessä laboratoriossa, jotka testasivat yhteensä 12 sokkonäytettä, kuusi signaalikuviota kohti (2 negatiivista uudelleenjärjestymän osalta, 2 heikosti positiivista näytettä, joissa 1–3-kertainen raja-arvo, ja 2 vahvasti positiivista näytettä, jotka sisälsivät yli 45 % uudelleenjärjestymälle positiivisia soluja). Analyysi tehtiin käyttämällä kahta kopiota jokaisesta näytteestä viiden ei-peräkkäisen päivän aikana.

Kaikissa kolmessa kohteessa suoritettiin päivän sisäinen, päivien välinen ja tutkimuspaikkojen välinen testaus käyttämällä samaa koetinerää, ja yksi kohde suoritti myös erien välisen uusittavuustestin käyttämällä kolmea eri koetinerää.

Tulokset esitettiin yleisenä yhtäpitävyytenä ennakoitun negatiivisen luokan kanssa (negatiivisten näytteiden osalta) ja ennakoitun positiivisen luokan kanssa (positiivisten näytteiden osalta).

Taulukko 4a. EV11 (MECOM) Breakapart Probe -koettimen uusittavuus ja tarkkuus – Inversion signaalikuvio

Muuttuja	Näytteen tyyppi	Yhtäpitävyys
Päivän sisäinen (näytteestä toiseen), päivien välinen (päivästä toiseen) ja testauspaikkojen välinen (testauspaikasta toiseen) uusittavuus	Luuydin, negatiivinen	100 %
	Luuydin, heikosti positiivinen	63 %
	Luuydin, vahvasti positiivinen	100 %
Erien välinen (erästä toiseen) uusittavuus	Luuydin, negatiivinen	92 %
	Luuydin, heikosti positiivinen	67 %
	Luuydin, vahvasti positiivinen	100 %

Taulukko 4b. EV11 (MECOM) Breakapart Probe -koettimen uusittavuus ja tarkkuus – Translokaation signaalikuvio

Muuttuja	Näytteen tyyppi	Yhtäpitävyys
Päivän sisäinen (näytteestä toiseen), päivien välinen (päivästä toiseen) ja testauspaikkojen välinen (testauspaikasta toiseen) uusittavuus	Luuydin, negatiivinen	100 %
	Luuydin, heikosti positiivinen	98 %
	Luuydin, vahvasti positiivinen	100 %
Erien välinen (erästä toiseen) uusittavuus	Luuydin, negatiivinen	100 %
	Luuydin, heikosti positiivinen	100 %
	Luuydin, vahvasti positiivinen	100 %

Ylimääräinen uusittavuustutkimus tehtiin korvaamaan inversion signaalikuvion heikosti positiivisia näytteitä. Tutkimuksessa käytettiin kahta näytettä, joiden tasot olivat heikosti positiivisia (2 ja 4 kertaa raja-arvo), ja yhtä negatiivista näytettä, joiden avulla määritettiin

- yhden tutkimuspaikan päivän sisäinen uusittavuus (näytteestä toiseen)
- yhden tutkimuspaikan päivien välinen uusittavuus (päivästä toiseen)
- yhden tutkimuspaikan käyttäjien välinen uusittavuus (käyttäjistä toiseen).

Uusittavuus määritettiin käyttämällä yhden erän koetinta, arvioimalla kahta kopiota jokaisesta näytteestä ja käyttämällä testaamiseen kahta eri käyttäjää viitteen ei-peräkkäisenä päivänä.

Tulokset esitettiin yleisenä yhtäpitävyytenä ennakoitun positiivisen luokan kanssa (positiivisten näytteiden osalta).

Taulukko 4c. EVI1 (MECOM) Breakapart Probe -koettimen uusittavuutta ja tarkkuutta tukevia lisätietoja – Inversion signaalikuvia

Muuttuja	Näytteen tyyppi	Yhtäpitävyys
Päivän sisäinen (näytteestä toiseen), päivien välinen (päivästä toiseen) ja käyttäjien välinen (käyttäjistä toiseen) uusittavuus	Luuydin, heikosti positiivinen (2 kertaa raja-arvo)	100 %
	Luuydin, heikosti positiivinen (4 kertaa raja-arvo)	100 %

Kliininen suorituskyky

Sen määrittämiseksi, havaitseeko tuote aiottuja uudelleenjärjestymiä, kliininen suorituskyky määritettiin suorittamalla kolme tutkimusta edustaville otoksille tuotteen aiotusta populaatiosta: Carnoy'n liuokseen (3:1 metanoli-/etikkahappo) fiksoidusta, hematologisesti johdetuista solususpensioista, jotka oli otettu potilailta, joilla oli vahvistettu tai epäilty akuutti myeloinen leukemia (AML) tai myelodysplastisia neoplasmoja (MDS). Tutkimusten yhteenlaskettu otannan koko oli satakahdeksantoista (118) näytettä, joista kohdepopulaatio seitsemän (7) translokaatioitaan positiivista ja satayksitoista (111) translokaatioitaan negatiivista näytettä, ja satayhdeksantoista (119) näytettä, joista satayksitoista (111) inversioitaan negatiivista ja kahdeksan (8) inversioitaan positiivista näytettä. Tuloksia verrattiin näytteen tunnettuun tilaan. Tulosten yhdenmukaisuuden/ristiriitaisuuden todettiin täyttävän tutkimuksen hyväksyntäkriteerit.

Näiden testien tulokset analysoitiin, jotta saatiin kliinisen herkkyyden, kliinisen spesifisyyden ja väärien positiivisten osuuden (FPR) arvot positiivisille signaaleille, käyttämällä yksidimensionaalista lähestymistapaa.

Taulukko 5. EVI1 (MECOM) Breakapart Probe -koettimen kliininen suorituskyky – Translokaatio

Muuttuja	Tulos
Kliininen herkkyys (oikeiden positiivisten osuus, TPR)	99,94 %
Kliininen spesifisyys (oikeiden negatiivisten osuus, TNR)	99,97 %
Väärien positiivisten osuus (FPR) = 1 – spesifisyys	0,03 %

Taulukko 6. EVI1 (MECOM) Breakapart Probe -koettimen kliininen suorituskyky – Inversio

Muuttuja	Tulos
Kliininen herkkyys (oikeiden positiivisten osuus, TPR)	96,26 %
Kliininen spesifisyys (oikeiden negatiivisten osuus, TNR)	99,28 %
Väärien positiivisten osuus (FPR) = 1 – spesifisyys	0,72 %

Yhteenveto turvallisuudesta ja suorituskyvystä (SSP)

SSP tulee yleisön saataville eurooppalaisen lääkinnällisten laitteiden tietokannan (Eudamed) kautta, mistä se on haettavissa Basic UDI-DI -tunnisteella.

Eudamedin URL-osoite: <https://ec.europa.eu/tools/eudamed>
Basic UDI-DI: 50558449LPH036JL

Jos Eudamed ei ole täysin toiminnallinen, SSP saatetaan yleisön saataville pyynnöstä sähköpostitse osoitteeseen SSP@ogt.com.

Lisätietoja

Tuotteita koskevia lisätietoja on saatavilla ottamalla yhteyttä CytoCell-yhtiön teknisen tuen osastoon.

Puh.: +44 (0)1223 294048

Sähköposti: techsupport@cytozell.com

Verkkosivut: www.ogt.com

Viitteet

- WHO Classification of Tumours Editorial Board. *Haematolymphoid tumours* [Internet; beta version ahead of print]. Lyon (France): International Agency for Research on Cancer; 2022 [cited 2023 December 21]. (WHO classification of tumours series, 5th ed.; vol. 11). Available from: <https://tumourclassification.iarc.who.int/chapters/63>
- Ottema et al. Atypical 3q26/MECOM rearrangements genocopy inv(3)(t(3;3)) in acute myeloid leukemia. *Blood* (2020)136(2):224–234.
- Rack et al., *Leukemia* (2019) 33:1851–1867
- Arsham, MS., Barch, MJ. and Lawce HJ. (eds.) (2017) *The AGT Cytogenetics Laboratory Manual*. New Jersey: John Wiley & Sons Inc.
- Mascarello JT, Hirsch B, Kearney HM, et al. Section E9 of the American College of Medical Genetics technical standards and guidelines: fluorescence in situ hybridization. *Genet Med*. 2011;13(7):667-675.
- Wiktor AE, Dyke DL 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.

Symbolisanasto

EN ISO 15223-1:2021 – ”Lääkinnälliset laitteet – Valmistajan toimittamissa tiedoissa käytettävät symbolit. Osa 1: Yleiset vaatimukset” (© International Organization for Standardization)		
Symboli	Nimike	Viitenumero(t)
	fi: Valmistaja	5.1.1
	fi: Valtuutettu edustaja Euroopan yhteisön / Euroopan unionin alueella	5.1.2
	fi: Käytön eräpäivä	5.1.4
	fi: Eräkoodi	5.1.5
	fi: Kuvastonumero	5.1.6
	fi: Pidettävä poissa auringonvalosta	5.3.2
	fi: Lämpötilaraja	5.3.7
	fi: Tutustu käyttöohjeisiin	5.4.3
	fi: Tutustu sähköisiin käyttöohjeisiin ogt.com/IFU	5.4.3
	fi: Huomio	5.4.4
	fi: In vitro -diagnostoinen lääkinnällinen laite	5.5.1
	fi: Riittävä sisältö <n> testiin	5.5.5
	fi: Yksilöllinen laitetunniste	5.7.10
IVD-reagensseja ja -osia koskevat EDMA-symbolit, lokakuun 2009 versio		
Symboli	Nimike	Viitenumero(t)
	fi: Sisältö (tai sisältää)	–

Patentit ja tavaramerkit

CytoCell on Cytozell Limited -yhtiön rekisteröity tavaramerkki.



Cytozell Limited

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

Puh.: +44 (0)1223 294048

Faksi: +44 (0)1223 294986

Sähköposti: probes@cytozell.com

Verkkosivut: www.ogt.com



Sysmex Europe SE

Bornbarch 1
22848 Norderstedt
SAKSA

Puh.: +49 40 527260

Verkkosivut: www.sysmex-europe.com

Käyttöohjeen versiohistoria

V001 2024-02-05: Uusi käyttöohje asetuksen (EU) 2017/746 vuoksi