



A Sysmex Group Company



Käyttöohje

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

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



VAIN AMMATTIKÄYTTÖÖN



Lisätietoja ja muita kieliä saatavilla osoitteesta ogt.com/IFU

Käyttötarkoitus

CytoCell® BCR/ABL (ABL1) Plus Translocation, Dual Fusion Probe -koetin on kvalitatiivinen, ei-automatisoitu FISH (fluorescence *in situ* hybridisation) -testi, jota käytetään kromosomien uudelleenjärjestymien havaitsemiseen kromosomin 9 alueen 9q34.1 ja kromosomin 22 alueen 22q11.2 välillä, kun kromosomin 9 alueella 9q34.1 on tai ei ole samanaikaisia ASS1-deleetioita, Carnoy'n liuokseen (3:1 metanoli/etikkahappo) fiksoiduille, hematologisesti johdetuille solususpensioille potilailta, joilla on vahvistettu tai epäilty krooninen myeloinen leukemia (KML), akuutti myeloinen leukemia (AML) tai akuutti lymfoblastinen leukemia (ALL).

Käyttöaiheet

Tämä laite on suunniteltu käytettäväksi muiden kliinisten ja histopatologisten testien lisäksi vakiintuneissa diagnostiikan ja kliinisen hoidon hoitopoluissa, joissa tieto BCR::ABL1-translokaation tilasta ja ASS1-deleetion tilasta olisi tärkeää kliiniselle hoidolle.

Rajoitukset

Laite on suunniteltu havaitsemaan uudelleenjärjestymiä, joissa on katkaisukohtia punaisten ja vihreiden kloonien peittämällä alueella tai deleetioita sinivihreiden kloonien peittämällä alueella tässä koetinsarjassa, joka sisältää ABL1-, BCR- ja ASS1-alueet. Tämä laite ei ehkä havaitse kyseisen alueen ulkopuolisia katkoskohtia tai vaihtoehtoisia uudelleenjärjestymiä tai osittaista puuttumista tällä alueella. Tätä laitetta ei ole tarkoitettu käytettäväksi riippumattomaan diagnostiikkaan, kytkösdiaagnostiikkaan, raskausajan tutkimuksiin, väestöpohjaiseen seulontaan, vieritestaukseen 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 tulkin on oltava yhdenmukainen ammattimaisten käytäntöstandardien kanssa, ja niissä on otettava huomioon muut olennaiset testitulokset ja kliiniset ja diagnostiset tiedot. Tämä laite on tarkoitettu ainoastaan ammattimaiseen laboratoriokäyttöön. Mikäli protokollaa ei noudateta, se saattaa vaikuttaa suorituskykyyn ja johtaa virheellisiin positiivisiin/negatiivisiin tuloksiin.

Testin periaatteet

Fuoresenssi *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 fiksation ja denaturation jälkeen saatavilla palautumiseksi samalla tavoin denaturoitun, fluoresenssimerkittyyn DNA-koettimeen, jolla on täydentävä sekvenssi. Hybridisaation jälkeen sitomaton ja muu

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

Koettimen tiedot

BCR (RhoGEF:n ja GTPasen BCR-aktivaattori) -geeni sijaitsee alueella 22q11.2, ABL1 (ABL proto-onkogeeni 1, ei-reseptori tyrosiinkinaasi) -geeni sijaitsee alueella 9q34.1 ja ASS1 (arginosukkinaattisyntaasi 1) -geeni sijaitsee alueella 9q34.1. Translokaatio BCR:n ja ABL1:n välillä saa aikaan BCR::ABL1-fuusiogeenin. BCR::ABL1-fuusion esiintymisellä on merkittäviä seurauksia diagnoosin ja ennusteen kannalta useissa hematologisissa sairauksissa.

Translokaatio t(9;22)(q34.1;q11.2) on kroonisen myelooisen leukemian (KML) tunnusmerkki, ja se on havaittavissa noin 90–95 prosentissa tapauksista¹. Muissa tapauksissa esiintyy jokin vaihtoehtoinen translokaatio tai niissä on 9q34.1:n ja 22q11.2:n välillä jokin kryptinen uudelleenjärjestelmä, jota ei voida tunnistaa rutiininomaisella sytogeneettisellä analyysillä¹. BCR::ABL1-fuusiot esiintyvät myös 25 prosentissa aikuisten akuutteja lymfoblastisia leukemioita (ALL) ja 2–4 prosentissa lapsuasajan ALL-leukemioita¹. Tätä uudelleenjärjestymää nähdään myös harvinaisissa akuutin myelooisen leukemian (AML) tapauksissa².

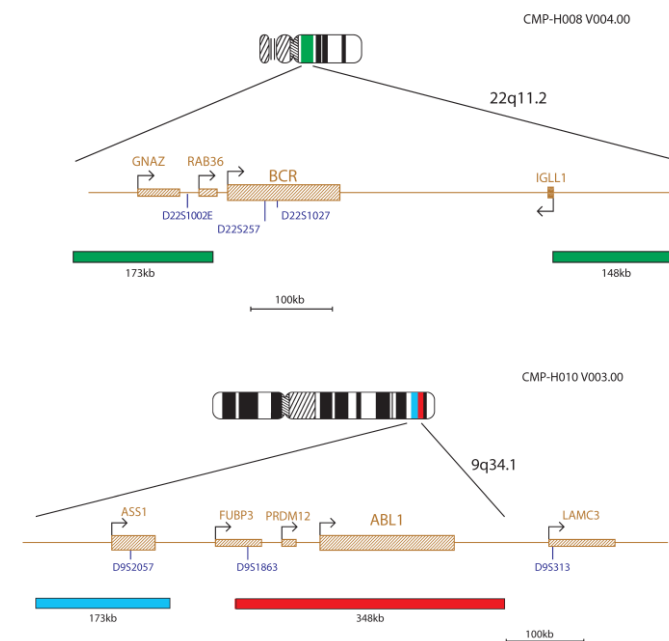
Kromosomien 9 ja 22 välisiin translokaatioihin voi liittyä proksimaalisten jaksojen puuttuminen johdannaiskromosomissa 9, mukaan lukien ASS1 (arginosukkinaattisyntaasi 1) -alue³.

Koettimen tekniset tiedot

ASS1, 9q34.1, sinivihreä

ABL1, 9q34.1, punainen

BCR, 22q11.2, vihreä



Vihreä koetinseos sisältää 173 kb:n koettimen, joka on sentromeerinen BCR-geeniin nähden ja joka kattaa geenit GNAZ ja RAB36. Toinen vihreä koetin kattaa 148 kb:n alueen BCR-geenin telomeerisella puolella, ja se kattaa osan IGLL1-geenistä.

Punainen ja sinivihreä koetinseos sisältää 348 kb:n punaisen koettimen, joka kattaa ABL1-geenin, ja 173 kb:n sinivihreän koettimen, joka kattaa ASS1-geenin.

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-diamidiini-2-fenyyli-indoli) glyserolipohjaisessa preparointiaineessa).

Varoitukset ja varotoimet

1. *In vitro* -diagnostiseen käyttöön. Vain ammattikäyttöön laboratoriossa.
2. Koetinseokset sisältävät formamidia, joka on teratogeeni: älä hengitä höyryjä sisään tai päästä ainetta kosketuksiin ihon kanssa. Käsiteltävä varoen: käytä käsiineitä ja laboratoriotakkeja.
3. Käsittele DAPIa varoen: käytä käsiineitä ja laboratoriotakkeja.
4. Ei saa käyttää, jos pullo on vaurioitunut tai jos pullon sisältö on voinut vahingoittua millään tavalla.
5. Hävitä tämä tuote turvallisesti noudattaen hävittämistä koskevia paikallisia määräyksiä ja käyttöturvallisuustiedotteessa annettuja suosituksia. Tämä koskee myös vahingoittunutta testisarjan sisältöä.
6. Hävitä kaikki käyttämätön reagenssi ja muu kontaminoitunut kertakäyttömateriaali tartuntavaarallista tai mahdollisesti tartuntavaarallista

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

Sivu 1/5

- 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 suorituskyykyyn 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 suorituskyykyyn 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 määrityksen tuloksia. Valolle ja lämpötilan muutoksille altistumista on rajoitettava kaikin mahdollisin keinoin.

Tarvittavat laitteet ja materiaalit, jotka eivät sisälly pakkaukseen

Kalibroituja laitteistoa on käytettävä:

- Lämpölevy (kiinteällä levyllä ja tarkalla lämpötilan hallinnalla 80 °C:n lämpötilaan saakka)
- Kalibroidut tilavuudeltaan vaihtelevat mikropipetit ja kärjet, 1–200 µl
- Vesikylypy tarkalla lämpötilan hallinnalla 37 °C:n ja 72 °C:n lämpötilassa
- Mikrosentrifugiputket (0,5 ml)
- Fuoresenssimikroskooppi (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
- Fuoresenssiluokan mikroskooppilinnsin immersioöljy
- Työpöytäsentrifugi
- Mikroskooppiobjektilasi
- 24 x 24 mm:n peitelasi
- Ajatin
- 37 °C:n inkubaattori
- Kumiliuosliima
- Pöyresekoitin
- 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

Fuoresenssimikroskooppisuositus

Käytä 100 watin elohopealampua tai vastaavaa ja öljyimmersiosuunnitelman 60/63x- tai 100x-apokromaattiohjelmia 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 aallonpituudet.

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

Tarkista fluoresenssimikroskooppi ennen käyttöä varmistaaksesi, että se toimii asianmukaisesti. Käytä immersioöljyä, joka soveltuu fluoresenssimikroskoopille ja jonka koostumus on tarkoitettu alhaiselle automaattiselle fluoresenssille. Vältä häipymistä ehkäisevän DAPIn sekoittamista mikroskoopin immersioöljyn kanssa, sillä se hämää signaaleita. Noudata valmistajien suosituksia lampun käyttöajan ja suodatinten iän suhteen.

Näytteen valmistelu

Sarja on suunniteltu käytettäväksi Carnoy'n liuosfiksatiiviin (3:1 metanoli/etikkahappo) fiksoituihin, hematologisesti johdettuihin solususpensioihin, jotka on valmistettu laboratorion tai laitoksen suuntaviivojen mukaisesti. Valmistele ilmakeivä näytteet mikroskoopin objektiivilaseille sytogeneettisten vakioitimenpiteiden mukaisesti. AGT-sytogenetiikkalaboratorion opaskirja sisältää suosituksia näytteen keräämisestä, viljelystä, poiminnasta ja objektiivilasiain valmistelusta⁴.

Liuksen valmistus

Etanoliliuokset

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

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

2 x SSC-liuos

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

FISH-protokolla

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

Objektiivilasin valmistelu

- Laita pisara solunäytettä mikroskooppiobjektilasille. 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 koetiniuos 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.

17. Peitä peitelasilla, poista mahdolliset kuplat ja anna värin kehittyä pimeässä 10 minuuttia.
18. Tarkastele fluoresenssimikroskoopilla (katso **Fluoresenssimikroskooppisuositus**).

Toimenpidesuosituks

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

Tulosten tulkitseminen

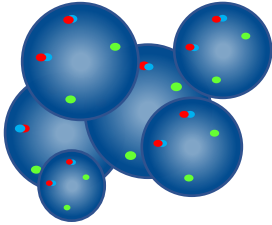
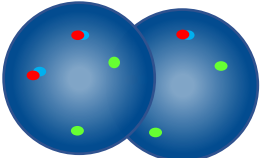
Objektiivilasin laadun arviointi

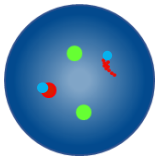
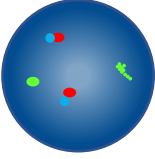
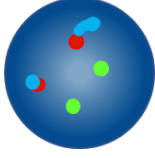
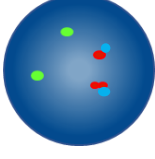
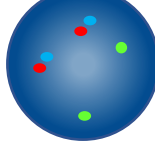
Objektiivilasia ei tarvitse analysoida, jos:

- yksittäisten suodatinten 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 objektiivilaseissa taustan pitäisi näkyä tummana tai mustana ja puhtana
- solun tuman rajoja ei voida erottaa, eivätkä ne ole eheitä.

Analysointiohjeet

- Kahden analyytikon pitäisi analysoida ja tulkita jokainen näyte. Kaikki eriävyydet 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 objektiivilasin 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 tuman kohdalla. Käytä tällaisissa tapauksissa yksittäisiä suodattimia 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.
- Mikäli on epäilystä siitä, voidaanko solu analysoida, älä analysoi sitä.

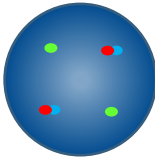
Analysointiohjeet	
	Älä laske – tumat ovat liian lähekkäin, jotta rajoja voisi määrittää
	Älä laske päällekkäisiä tumia – kummankin tuman kaikki alueet eivät ole näkyvissä

	Laske kahdeksi punaiseksi/sinivihreäksi signaaliksi ja kahdeksi vihreäksi signaaliksi – toinen kahdesta punaisesta signaalista on hajanainen
	Laske kahdeksi punaiseksi/sinivihreäksi signaaliksi ja kahdeksi vihreäksi signaaliksi – toinen kahdesta vihreästä signaalista on hajanainen
	Laske kahdeksi punaiseksi/sinivihreäksi signaaliksi ja kahdeksi vihreäksi signaaliksi – toinen kahdesta sinivihreästä signaalista on hajanainen
	Laske kahdeksi punaiseksi/sinivihreäksi signaaliksi ja kahdeksi vihreäksi signaaliksi – toisen punaisen signaalin rako on pienempi kuin kaksi koettimen leveyttä
	Laske kahdeksi punaiseksi/sinivihreäksi signaaliksi ja kahdeksi vihreäksi signaaliksi – punaisen ja sinivihreän signaalin välinen rako on pienempi kuin kaksi koettimen leveyttä

Odotettavissa olevat tulokset

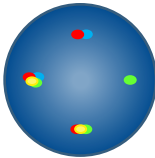
Odotettavissa oleva normaali signaalikuvi

Kolmivärinen Dual Fusion Probe

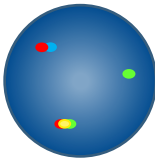


Tavallisessa solussa on odotettavissa kaksi punaista/sinivihreää fuusiota ja kaksi vihreää signaalia (2PS2V).

Odotettavissa olevat epänormaalit signaalikuviot



Jos solussa on t(9;22)(q34.1;q11.2)-uudelleenjärjestelmä, odotettavissa on yksi punainen/sinivihreä fuusio, yksi vihreä signaali, yksi punainen/vihreä fuusio, yksi punainen/vihreä/sinivihreä fuusio (1PS1V1PV1PVS).



Jos solussa on t(9;22)(q34.1;q11.2)-uudelleenjärjestelmä ja proksimaalisen 9q:n ja distaalisen 22q:n deleetio, odotettavissa on yksi punainen/sinivihreä fuusio, yksi vihreä signaali ja yksi punainen/vihreä fuusio (1PS1V1PV).

Muut signaalikuviot ovat mahdollisia aneuploidisissa/epätasapainoisissa näytteissä.

Tunnetut olennaiset häiriöt / häiritsevät aineet
Ei tunnettuja olennaisia häiriöitä / häiritseviä aineita.

Tunnettu ristireaktiivisuus
Vihreä BCR-distaalikoetin voi näyttää enintään 2 signaalia kromosomille 7 paikassa 7q11.2.

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@oqt.com
Luettelo vaaratilanteista 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. Kolme (3) kromosomin lokusta jokaisessa 100 metafaasisolussa analysoidiin viidestä (5) näytteestä, jolloin saatiin 600 tietopistettä. Jokaisen hybridisointuneen koettimen paikka kartoitettiin, ja oikeaan lokukseen hybridisointuneiden metafaasikromosomien FISH-signaalien lukumäärä kirjattiin.

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

Taulukko 1. BCR/ABL (ABL1) Plus Translocation, Dual Fusion Probe -koettimen analyttinen spesifisyys

Kohde	Hybridisointuneiden metafaasikromosomien lukumäärä	Oikein hybridisointuneiden lokusten lukumäärä	Analyttinen spesifisyys	95 %:n luottamusväli
9q34.1	200	200	100 %	98,12–100 %
22q11.2	200	200	100 %	98,12–100 %
9q34.1	200	200	100 %	98,12–100 %

Analyttinen herkkyys
Analyttinen herkkyys on niiden tulosten laskennassa käytettävien interfaasisolujen prosenttiosuus, joiden odotettavissa oleva signaalikuvio on normaali. Vähintään 100 interfaasisolua analysoidiin jokaisesta 25 fiksoidusta luuydinsolususpensiosta, ja ne katsottiin negatiivisiksi BCR::ABL1-translokaation ja ASS1-deleation osalta, jolloin saatiin vähintään 2 500 tumaa näytetäyttyä kohden. Herkkyystiedot analysoidiin niiden solujen prosenttimäärän perusteella, jotka osoittivat normaalia odotettavissa olevaa signaalikuviota, ja tulos ilmaistiin prosenttiosuudella sekä 95 prosentin luottamusvälillä.

Taulukko 2. BCR/ABL (ABL1) Plus Translocation, Dual Fusion Probe -koettimen analyttinen herkkyys

Näytteen tyyppi	Herkkyuden kriteerit	Herkkyuden tulos
Luuydin	> 95 %	100,0 % (± ei mitään)

Normaalien raja-arvojen luokittelu
Normaalisti raja-arvoksi määritettiin niiden solujen prosenttiosuus, joissa esiintyi väärä positiivinen signaalikuvio, jolloin henkilöä pidettäisiin normaalina eikä kliinisen diagnoosin mukaisena. Vähintään 100 interfaasisolua analysoidiin jokaisesta 25 fiksoidusta luuydinnäytesolususpensiosta, ja ne katsottiin negatiivisiksi BCR::ABL1-translokaation osalta, jolloin saatiin vähintään 2 500 tumaa näytetäyttyä kohden.

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

Taulukko 3. BCR/ABL (ABL1) Plus Translocation, Dual Fusion Probe -koettimen normaalien raja-arvojen luokittelu

Näytteen tyyppi	Signaalikuvio	Raja-arvojen tulos
Luuydin	1PS1V1PV	2,95 %
	1PS1V1PV1PVS	2,95 %

Laboratorioiden on tarkistettava raja-arvot käyttäen omia tietojään^{5,6}.

Tarkkuus
Tämän tuotteen tarkkuus on mitattu päivän sisäisellä tarkkuudella (näytteiden kesken), päivien välisellä tarkkuudella (päivien kesken) sekä yhden kohteen erien välisellä tarkkuudella (erien kesken).

Kolmea näytettä käytettiin tämän tuotteen arviointiin: 3:1 jäännösmetanoli-/etikahappofiksatiivia tunnistamattomaksi tehdyistä luuydinnäytteistä, jotka olivat peräisin Cytozell-yhtiön fiksitoitujen solunäytteiden pankista. Otoskoko oli kolme (3), joka käsitti odotetun normaalin ja heikosti positiivisen alueen.

Päivien välisen ja päivän sisäisen tarkkuuden määrittämiseksi näytteet arvioitiin kymmenen (10) ei-peräkkäisen päivän ajalta. Erien välisen tarkkuuden määrittämiseksi kolme (3) tuote-erää arvioitiin kolmesta (3) saman näytteen replikaatista. Tulokset esitettiin yleisenä yhtäpitävyytenä ennakoitujen negatiivisen luokan kanssa (negatiivisten näytteiden osalta).

Taulukko 4. BCR/ABL (ABL1) Plus Translocation, Dual Fusion Probe -koettimen uusittavuus ja tarkkuus

Muuttuja	Näytteen tyyppi	Yhtäpitävyys
Päivän sisäinen (näytteestä toiseen) ja päivien välinen (päivästä toiseen) uusittavuus	Luuydin, negatiivinen	96,7 %
	Luuydin heikko positiivinen 1PS1V1PV	96,7 %
	Luuydin heikko positiivinen 1PS1V1PV1PVS	83,3 %
Erien välinen uusittavuus	Luuydin, negatiivinen	100,0 %
	Luuydin heikko positiivinen 1PS1V1PV	100,0 %
	Luuydin heikko positiivinen 1PS1V1PV1PVS	77,8 %

Kliininen suorituskyky
Sen määrittämiseksi, havaitseeko tuote aiottuja uudelleenjärjestymiä, kliininen suorituskyky määritettiin suorittamalla kaksi tutkimusta edustaville otoksille tuotteen aiotusta populaatioista: Carnoy'n liuokseen (3:1 metanoli/etikahappo) fiksitoituja, hematologisesti johdettuja solususpensioita, jotka on otettu potilailta, joilla on vahvistettu tai epäilty krooninen myeloinen leukemia (KML), akuutti myeloinen leukemia (AML) tai akuutti lymfoblastinen leukemia (ALL), ja valmistettu laboratorion tai laitoksen suuntaaviivojen mukaisesti. Tutkimusten yhdistetty otoskoko oli 125 näytettä, jotka koostuivat 99 BCR::ABL1-translokaatioitaan negatiivisesta ja 26 BCR::ABL1-translokaatioitaan positiivisesta näytteestä. Tuloksia verrattiin näytteen tunnettuun tilaan. Koetin tunnisti oikein näytteiden tilan kaikissa tapauksissa.

Näiden testien tulokset analysoidiin, jotta saatiin kliinisen herkkyyden, kliinisen spesifisyyden ja väärin positiivisten osuuden (FPR) arvot positiivisille signaaleille, käyttäen yksidimensionaalista lähestymistapaa.

Taulukko 5. BCR/ABL (ABL1) Plus Translocation, Dual Fusion Probe -koettimen kliininen suorituskyky

Muuttuja	Tulos
Kliininen herkkyys (oikeiden positiivisten osuus, TPR)	98,97 %
Kliininen spesifisyys (oikeiden negatiivisten osuus, TNR)	99,73 %
Väärin positiivisten osuus (FPR) = 1 – spesifisyys	0,27 %

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: <https://ec.europa.eu/tools/eudamed>
Basic UDI-DI: 50558449LPH038JQ

Jos Eudamed ei ole täysin toiminnallinen, SSP saatetaan yleisön saataville pyynnöstä sähköpostiin osoitteeseen SSP@oqt.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.oqt.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 March 29]. (WHO classification of tumours series, 5th ed.; vol. 11). Available from: <https://tumourclassification.iarc.who.int/chapters/63>
- Soupir et al., Am J Clin Pathol 2007;127:642-650
- Robinson et al., Leukemia 2005;19(4):564-71
- Arsham, MS., Barch, MJ. and Lawce HJ. (eds.) (2017) *The AGT Cytogenetics Laboratory Manual*. New Jersey: John Wiley & Sons Inc.
- Mascarello JT, Hirsch B, Kearney HM, et al. Section E9 of the American College of Medical Genetics technical standards and guidelines: fluorescence in situ hybridization. Genet Med. 2011;13(7):667-675.
- Wiktor AE, Dyke DLV, Stupca PJ, Ketterling RP, Thorland EC, Shearer BM, Fink SR, Stockero KJ, Majorowicz JR, Dewald GW. *Preclinical validation of fluorescence in situ hybridization assays for clinical practice*. Genetics in Medicine. 2006;8(1):16–23.

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
 ogt.com/IFU	fi: Tutustu sähköisiin käyttöohjeisiin	5.4.3
	fi: Huomio	5.4.4
	fi: <i>In vitro</i> -diagnostinen lääkinällinen 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)	–

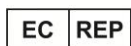
Patentit ja tavaramerkit

CytoCell on CytoCell Limited -yhtiön rekisteröity tavaramerkki.



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

Puh.: +44 (0)1223 294048
F: +44 (0)1223 294986
Sähköposti: probes@cytoCell.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 2023-06-13: Uusi käyttöohje asetuksen (EU) 2017/746 vuoksi
V002 2025-08-29: UKCA-merkinnän poistaminen.