



A Sysmex Group Company



## Käyttöohje

REF: CE-LPH 022-S / CE-LPH 022

## CBFβ (CBFB)/MYH11 Translocation, Dual Fusion Probe



VAIN AMMATTIKÄYTTÖÖN



Lisätietoja ja muita kieliä saatavilla osoitteesta [ogt.com/IFU](http://ogt.com/IFU)

### Käyttötarkoitus

CytoCell® CBFβ (CBFB)/MYH11 Translocation, Dual Fusion Probe -koetin on kvalitatiivinen, ei-automatisoitu FISH (fluorescence *in situ* hybridisation) -testi, jota käytetään kromosomien uudelleenjärjestymien havaitsemiseen kromosomin 16 alueen 16p13.1 ja kromosomin 16 alueen 16q22 välillä Carnoy'n liuokseen (3:1 metanoli/etikkahappo) fiksoituille, hematologisesti johdetuille solususpensioille potilailta, joilla on vahvistettu tai epäilty akuutti myeloinen leukemia (AML).

### Käyttöaiheet

Tämä laite on suunniteltu käytettäväksi muiden kliinisten ja histopatologisten testien lisäksi vakiintuneissa diagnostiikan ja kliinisen hoidon hoitopoliissa, joissa tieto CBFβ::MYH11-translokaation tilasta olisi tärkeää kliiniselle hoidolle.

### Rajoitukset

Laite on suunniteltu havaitsemaan uudelleenjärjestymiä, joissa on katkoskohtia koetinsarjan punaisten ja vihreiden kloonien rajaamilla alueilla, joihin sisältyvät CBFβ - ja MYH11-alueet. Tämä laite ei ehkä havaitse kyseisen alueen ulkopuolisia katkoskohtia tai vaihtoehtoisia uudelleenjärjestymiä, jotka sisältyvät kokonaisuudessaan tälle alueelle.

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 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 kokonaisiaromosomeja 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 tumorien kromosomianalyysiin. Kohde-DNA on fiksaation ja denaturaation jälkeen saatavilla palautumista varten samalla tavoin denaturoituun, 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 kohdemaailissa.

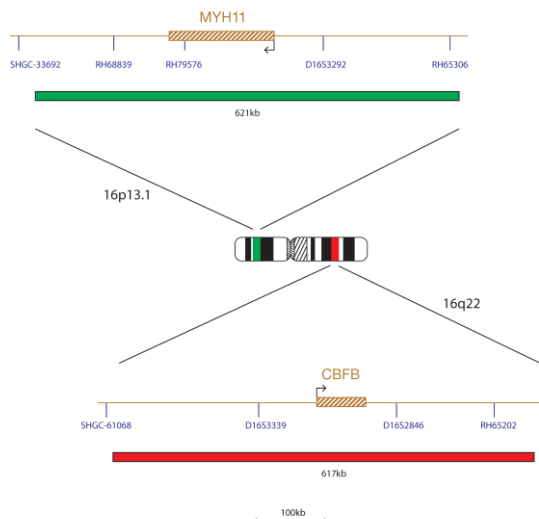
### Koettimen tiedot

CBFB (core-binding factor beta subunit) -geeni sijaitsee alueella 16q22, kun taas MYH11 (myosin heavy chain 11) -geeni alueella 16p13.1. Inversio inv(16)(p13.1q22.1) ja translokaatio t(16;16)(p13.1;q22) synnyttävät CBFβ::MYH11-fuusiogeenin. Akuutti myeloinen leukemia (AML), johon liittyy CBFβ::MYH11-fuusio, on tunnistettu tautikokonaisuus Maailman terveysjärjestön (WHO) luokituksessa<sup>1</sup>. Tämä AML-tyyppi kattaa 5–8 % nuorten aikuisten AML-tapauksista, ja sen ilmaantuvuus on vähäisempää iäkkäiden aikuisten keskuudessa<sup>1</sup>. Inv(16)(p13.1q22)-inversio on yleisin sytogeneettinen muutos, ja sitä tavataan noin 95 %:lla CBFβ::MYH11-potilaista<sup>1</sup>. AML:n, johon liittyy CBFβ::MYH11-fuusio, ennuste on hyvä ja pitkän ajan henkiinjäämisprosentti aikuisilla noin 50 %<sup>1,2</sup>.

### Koettimen tekniset tiedot

CBFB, 16q22, punainen  
MYH11, 16p13.1, vihreä

CMP-H077 v005.00



Punaisella merkitty CBFB-koetin kattaa 617 kb:n alueen 16q22-alueella ja sisältää CBFB-geenin. Vihreällä merkitty MYH11-koetin kattaa 621 kb:n alueen 16p13.1-alueella ja sisältää MYH11-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-fenylyli-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 käsineitä ja laboratoriotakkia.
3. Käsittele DAPIa varoen: käytä käsineitä ja laboratoriotakkia.
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 jätettä koskevien ohjeistusten mukaisesti. Kunkin laboratorion vastuulla on käsitellä kiinteää ja nestemäistä jätettä sen luonteen ja vaarallisuustason mukaisesti ja noudattaa sen käsittelyssä ja hävittämisessä sovellettavia määräyksiä (tai varmistaa niiden noudattaminen).
7. Käyttäjien on pystyttävä erottamaan toisistaan punainen, sininen ja vihreä.
8. Mikäli hahmoteltua protokollaa ei noudateta ja sen mukaisia reagensseja ei käytetä, se saattaa vaikuttaa suorituskykyyn ja johtaa virheellisiin positiivisiin/negatiivisiin tuloksiin.
9. Koetinta ei saa laimentaa tai sekoittaa muiden koetinten kanssa.
10. Mikäli 10 µl:n koetinta ei käytetä protokollan esidenaturaatiovaiheessa, se saattaa vaikuttaa suorituskykyyn ja johtaa virheellisiin positiivisiin/negatiivisiin tuloksiin.
11. Kaikki tuotteet on validoitava ennen käyttöä.
12. 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 määrittelyn tuloksia. Valolle ja lämpötilan muutoksille altistumista on rajoitettava kaikin mahdollisin keinoin.

**Tarvittavat laitteet ja materiaalit, jotka eivät sisälly pakkaukseen**

Kalibroituja laitteistoa on käytettävä:

1. Lämpölevy (kiinteällä levyllä ja tarkalla lämpötilan hallinnalla 80 °C:n lämpötilaan saakka)
2. Kalibroidut tilavuudeltaan vaihtelevat mikropipetit ja kärjet, 1–200 µl
3. Vesikylpä tarkalla lämpötilan hallinnalla 37 °C:n ja 72 °C:n lämpötilassa
4. Mikrosentrifugiputket (0,5 ml)
5. Fluoresenssimikroskooppi (katso Fluoresenssimikroskooppisuositus-osio)
6. Vaihekontrastimikroskooppi
7. Coplin-purkit puhdasta muovia, keramiikkaa tai lämmönkestävää lasia
8. Pihdit
9. Kalibroitu pH-mittari (tai pH-indikaattoriliuskat, joilla voidaan mitata 6,5–8,0:n pH-arvo)
10. Kostutettu säiliö
11. Fluoresenssiluokan mikroskoopinlinssin immersioöljy
12. Työpöytäseentrifugi
13. Mikroskooppiobjekttilasi
14. 24 x 24 mm:n peitelasit
15. Ajastin
16. 37 °C:n inkubaattori
17. Kumiliuosliima
18. Pyörresekoitin
19. Mittasylinterit
20. Magneettinen sekoitin
21. Kalibroitu lämpömittari

**Valinnainen laitteisto, ei sisälly pakkaukseen**

1. Sytogeneettinen kuivauskammio

**Tarvittavat reagenssit, jotka eivät sisälly pakkaukseen**

1. 20x suolaliuos-natriumsitraattiliuos (SSC)
2. 100-prosenttinen etanoli
3. Tween-20
4. 1M natriumhydroksidi (NaOH)
5. 1M suolahappo (HCl)
6. Akkuvesi

**Fluoresenssimikroskooppisuositus**

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

| Loisteaine | Viritysmaks<br>[nm] | Emissiomaks<br>[nm] |
|------------|---------------------|---------------------|
| DAPI       | 364                 | 454                 |
| Sinivihreä | 418                 | 467                 |
| Vihreä     | 495                 | 521                 |
| Punainen   | 596                 | 615                 |
| Kultainen  | 539                 | 561                 |
| Oranssi    | 551                 | 572                 |

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

Käytä DAPI- / vihreän spektrin / punaisen spektrin kolmoisikaistanpäästösuoatinta tai vihreän spektrin / punaisen spektrin kaksoiskaistanpäästösuoatinta vihreän ja punaisen loisteaineen optimaaliseen 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 DAPIn sekoittamista mikroskoopin immersioöljyn kanssa,

sillä se hämärtää signaaleita. Noudata valmistajien suosituksia lampun käyttöiän ja suodatinten iän suhteen.

**Näytteen valmistelu**

Sarja on suunniteltu käytettäväksi Carnoy'n liuokseen (3:1 metanoli/etikkahappo) fiksoituihin, hematologisesti johdettuihin solususpensioihin, jotka on otettu potilailta, joilla on vahvistettu tai epäilty akuutti myeloinen leukemia (AML), ja valmistettu laboratorion tai laitoksen suuntaviivojen mukaisesti. Valmistele ilmakuivatut näytteet mikroskooppiobjektilaseille sytogeneettisten vakiotomienpiteiden mukaisesti. AGT-sytogenetiikkalaboratorion opaskirja sisältää suosituksia näytteen keräämisestä, viljelystä, poiminnasta ja objektilasien valmistelusta<sup>3</sup>.

**Liuoksen valmistus**

**Etanolioliuokset**

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

- 70 % etanolia – 7 osaa 100-prosenttista etanolia ja 3 osaa akkuvedettä
  - 85 % etanolia – 8,5 osaa 100-prosenttista 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 laboratoriovaloille on aina rajallista).

**Objektilasin valmistelu**

1. Laita pisara solunäytettä mikroskooppiobjektilasilille. 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.)
2. Upota objektilasi 2 x SSC-liuokseen 2 minuutiksi huoneenlämpötilassa ravistamatta.
3. Kuivaa kutakin etanolisarjassa (70 %, 85 % ja 100 %) 2 minuuttia huoneenlämpötilassa.
4. Anna kuivua.

**Esidenaturaatio**

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

**Denaturaatio**

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

**Hybridisaatio**

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

**Hybridisaation jälkeiset pesut**

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

**Toimenpidesuosituks**

- 1. Objektilasien sintraaminen tai ikäännyttäminen saattaa heikentää signaalien fluoresenssia.
- 2. Muiden kuin Cytocell Ltd. -yhtiön toimittamien tai suosittelemien reagenssien käyttö saattaa vaikuttaa haitallisesti hybridisaatio-olosuhteisiin.
- 3. Käytä liuosten, vesikylpyjen 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**

**Objektilasin laadun arviointi**

Objektilasia 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 objektilaseissa taustan pitäisi näkyä tummana tai mustana ja puhtaana
- 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 objektilasin 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, voidaananko solu analysoida, älä analysoi sitä.

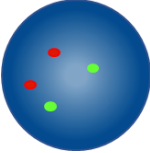
| Analysointiohjeet |                                                                                   |
|-------------------|-----------------------------------------------------------------------------------|
|                   | Älä laske – tumat ovat liian lähekkäin, jotta rajoja voisi määrittää              |
|                   | Älä laske päällekkäisiä tumia – kummankin tuman kaikki alueet eivät ole näkyvissä |
|                   | Odotettavissa oleva normaali signaalikuvio (2P, 2V)                               |

|  |                                                                                                                                   |
|--|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|  | Normaali signaalikuvio (2P, 2V) – yksi vihreä signaali paikantuvat samalle alueelle                                               |
|  | Normaali signaalikuvio (2P, 2V) – toinen kahdesta punaisesta signaalista on hajanainen                                            |
|  | Normaali signaalikuvio (2P, 2V) – yhden punaisen signaalin väli on pienempi kuin kaksi koettimen leveyttä                         |
|  | Normaali signaalikuvio (2P, 2V) – yksi punainen ja yksi vihreä signaali paikantuvat samalle alueelle                              |
|  | Odotettavissa oleva epänormaali signaalikuvio (1P, 1V, 2F) – punainen ja vihreä fuusiosignaali ovat proportionaalisesti pienempiä |
|  | Odotettavissa oleva epänormaali signaalikuvio (1P, 1V, 2F) – samalle alueelle paikantuvat fuusiosignaalit                         |
|  | Odotettavissa oleva epänormaali signaalikuvio (1P, 1V, 2F) – samalle alueelle paikantuvat fuusiosignaalit                         |
|  | Odotettavissa oleva epänormaali signaalikuvio (1P, 1V, 2F) – kaksi vierekkäistä fuusiosignaalia                                   |
|  | Laske yhdeksi punaiseksi, yhdeksi vihreäksi ja kahdeksi fuusiosignaalksi – yksi fuusiosignaali on hajanainen                      |



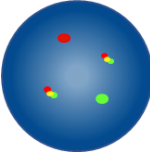
Laske yhdeksi punaiseksi, yhdeksi vihreäksi ja kahdeksi fuusiosignaalksi – punaisen ja vihreän signaalin väli fuusiossa on enintään kaksi koettimen leveyttä, ja fuusion punaiset ja vihreät signaalit ovat proportionaalisesti pienempiä

**Odotettavissa olevat tulokset**  
Odotettavissa oleva normaali signaalikuvio



Tavallisessa solussa on odotettavissa kaksi punaista ja kaksi vihreää signaalia (2P, 2V)

Odotettavissa olevat epänormaalit signaalikuviot



Jos solussa on inv(16)(p13.1;q22) tai t(16;16)(p13.1;q22), odotettavissa oleva signaalikuvio on yksi punainen, yksi vihreä ja kaksi fuusiota (1P, 1V, 2F).

Muut signaalikuviot ovat mahdollisia aneuploidisissa/epätasapainoisissa näytteissä.

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

**Tunnettu ristireaktiivisuus**  
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](mailto:vigilance@ogt.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](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 lukukseen eikä muihin sijainteihin. Kaksi kromosomin lokusta jokaisessa 20 metafaasisolussa analysoidiin viidestä näytteestä, jolloin saatiin 200 tietopistettä. Jokaisen hybridisoituneen koettimen paikka kartoitettiin, ja oikeaan lukukseen hybridisoituneiden metafaasikromosomien FISH-signaalien lukumäärä kirjattiin.

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

Taulukko 1. CBFβ (CBFB)/MYH11 Translocation, Dual Fusion Probe -koettimen analyttinen spesifisyys

| Kohde   | Hybridisoituneiden metafaasi-kromosomien lukumäärä | Oikein hybridisoituneiden lokusten lukumäärä | Analyttinen spesifisyys | 95 %:n luottamusväli |
|---------|----------------------------------------------------|----------------------------------------------|-------------------------|----------------------|
| 16q22   | 200                                                | 200                                          | 100 %                   | 98,12 % – 100 %      |
| 16p13.1 | 200                                                | 200                                          | 100 %                   | 98,12 % – 100 %      |

**Analyttinen herkkyys**  
Analyttinen herkkyys on niiden tulosten laskennassa käytettävien interfaasisolujen prosenttiosuus, joiden odotettavissa oleva signaalikuvio on normaali. Vähintään 200 interfaasisolua analysoidiin jokaisesta 25 luuydinnäytteestä, jolloin saatiin vähintään 5 000 tumaa näytetyyppeä kohden. Herkkyystiedot analysoidiin niiden solujen prosenttimäärän perusteella, jotka osoittivat normaalia odotettavissa olevaa signaalikuviota, ja tulos ilmaistiin prosenttiosuudella sekä 95 %:n luottamusvälillä.

Taulukko 2. CBFβ (CBFB)/MYH11 Translocation, Dual Fusion Probe -koettimen analyttinen herkkyys

| Näytteen tyyppi | Herkkyden kriteerit | Herkkyden tulos                |
|-----------------|---------------------|--------------------------------|
| Luuydin         | > 95 %              | 98,94 %<br>(98,59 % – 99,29 %) |

**Normaalien raja-arvojen luokittelu**  
Normaaliksi raja-arvoksi määritettiin niiden solujen prosenttiosuus, joissa esiintyi väärä positiivinen signaalikuvio, jolloin henkilöllä pidettäisiin normaalina eikä kliinisen diagnoosin mukaisena. Vähintään 200 interfaasisolua analysoidiin jokaisesta 1 300 luuydinnäytteestä, jolloin saatiin vähintään 260 000 tumaa näytetyyppeä 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. CBFβ (CBFB)/MYH11 Translocation, Dual Fusion Probe -koettimen normaalien raja-arvojen luokittelu

| Näytteen tyyppi | Raja-arvojen tulos |
|-----------------|--------------------|
| Luuydin         | 2,3 %              |

Laboratorioiden on tarkistettava raja-arvot käyttämällä omia tietoaan<sup>4,5</sup>.

**Uusittavuus**  
Uusittavuustutkimuksilla selvitettiin

- kolmen testauspaikan päivän sisäinen uusittavuus (näytteestä toiseen)
- kolmen testauspaikan 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 kuusi sokkonäytettä (kaksi negatiivisia uudelleenjärjestymän osalta, kaksi heikosti positiivista näytettä, joissa 1–3-kertainen raja-arvo ja kaksi 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 kohteiden välinen testaus käyttämällä samaa koetintä, ja yksi kohde suoritti myös erän sisäisen uusittavuustestin käyttämällä kolmea eri koetintä.

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

Taulukko 4a. CBFβ (CBFB)/MYH11 Translocation, Dual Fusion Probe -koettimen uusittavuus ja tarkkuus

| Muuttuja                                                                                                                                   | Näytteen tyyppi                | Yhtäpitävyys |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------|--------------|
| Päivän sisäinen (näytteestä toiseen), päivien välinen (päivästä toiseen) ja testauspaikkojen välinen (testauspaikasta toiseen) uusittavuus | Luuydin, negatiivinen          | 100 %        |
|                                                                                                                                            | Luuydin, heikosti positiivinen | 35 %         |
|                                                                                                                                            | Luuydin, vahvasti positiivinen | 100 %        |
| Erien välinen uusittavuus                                                                                                                  | Luuydin, negatiivinen          | 100 %        |
|                                                                                                                                            | Luuydin, heikosti positiivinen | 33 %         |
|                                                                                                                                            | Luuydin, vahvasti positiivinen | 100 %        |

Ylimääräinen uusittavuustutkimus tehtiin korvaamaan heikosti positiivisia näytteitä. Tutkimuksessa käytettiin kahta näytettä, joiden tasot olivat heikosti positiivisia (2 ja 4 kertaa raja-arvo), ja kahta 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 testaamalla viitenä ei-peräkkäisenä päivänä kahden käyttäjän toimesta.

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

Taulukko 4b. CBFβ (CBFB)/MYH11 Translocation, Dual Fusion Probe -koettimen uusittavuutta ja tarkkuutta tukevia lisätietoja

| 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 suorituskyyky

Sen varmistamiseksi, että CBFβ (CBFB)/MYH11 Translocation, Dual Fusion Probe -koetin tunnistaa aiottuja uudelleenjärjestymiä, kliininen suorituskyyky määritettiin suorittamalla neljä tutkimusta edustaville otoksille tuotteen aiotusta populaatioista: 3:1 metanoli/etikkahappofiksatiivilla fiksoidusta jäännösmateriaalista. Tutkimusten yhteenlaskettu otannan koko oli 393 näytettä, joista 28 oli positiivisia ja 365 negatiivisia. 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. CBFβ (CBFB)/MYH11 Translocation, Dual Fusion Probe -koettimen kliininen suorituskyyky

| Muuttuja                                                   | Tulos   |
|------------------------------------------------------------|---------|
| Kliininen herkkyys (oikeiden positiivisten osuus, TPR) *   | 98,76 % |
| Kliininen spesifisyys (oikeiden negatiivisten osuus, TNR)* | 99,52 % |
| Väärien positiivisten osuus (FPR) = 1 – spesifisyys*       | 0,48 %  |

Yhteenvedo turvallisuudesta ja suorituskyyvystä (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: 50558449LPH022J9

Jos Eudamed ei ole täysin toiminnallinen, SSP saatetaan yleisön saataville pyynnöstä sähköpostitse osoitteeseen [SSP@ogt.com](mailto:SSP@ogt.com).

Lisätietoja

Tuotteita koskevia lisätietoja on saatavilla ottamalla yhteyttä CytoCell-yhtiön teknisen tuen osastoon.  
Puh.: +44 (0)1223 294048  
Sähköposti: [techsupport@cytoCELL.com](mailto:techsupport@cytoCELL.com)  
Verkkosivut: [www.ogt.com](http://www.ogt.com)

Viitteet

1. 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 Nov 03]. (WHO classification of tumours series, 5th ed.; vol. 11). Available from: <https://tumourclassification.iarc.who.int/chapters/63>
2. Döhner, et al. Blood. 2022;140(122):1345-1377.
3. Arsham, MS., Barch, MJ. and Lawce HJ. (eds.) (2017) *The AGT Cytogenetics Laboratory Manual*. New Jersey: John Wiley & Sons Inc.
4. 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.
5. 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”<br>(© 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          |
| <br><a href="http://ogt.com/FU">ogt.com/FU</a> | fi: Tutustu sähköisiin käyttöohjeisiin                 | 5.4.3          |
|                                                | fi: Huomio                                             | 5.4.4          |
|                                                | fi: <i>In vitro</i> -diagnostinen 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 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  
Sähköposti: [probes@cytoCELL.com](mailto:probes@cytoCELL.com)  
Verkkosivut: [www.ogt.com](http://www.ogt.com)



**Sysmex Europe SE**  
Deelböge 19 D  
22297 Hamburg  
SAKSA

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

Käyttöohjeen versiohistoria

V001 2023-10-09: Uusi käyttöohje asetuksen (EU) 2017/746 vuoksi  
V002 2025-08-29: UKCA-merkinnän poistaminen  
V003 2025-09-09: Päivitä EU:n valtuutettujen edustajien osoite. Poista EU:n valtuutettujen edustajien puhelinnumero. Poista OGT:n faksinumero.