



A Sysmex Group Company



Käyttöohje

REF: LPH 036-S / LPH 036

EV11 (MECOM) Breakpart Probe irrotettava koetin



VAIN AMMATTIKÄYTTÖÖN



www.cytocell.com

Lisätietoja ja muita kielii saatavilla osoitteesta www.ogt.com

Rajoitukset

Laitte on suunniteltu havaitsemaan uudelleenjärjestyymiä, joissa on katkaisukohtia tämän koetin sarjan punaisten ja vihreiden kloonien sitomilla alueilla, joihin sisältyy EV11 (MECOM) -alue. Tämä tuote ei ehkä havaitse kyseisen alueen ulkopuolisia katkoskohtia tai vaihtoehtoisia uudelleenjärjestyymiä, jotka sisältyvät kokonaisuudessaan tälle alueelle.

Testiä ei ole tarkoitettu käytettäväksi riippumattomaan diagnostiikkaan, raskausajan tutkimuksiin, väestöpohjaiseen seulontaan, vieritestaukseen tai itsestestaukseen. Tämä tuote on tarkoitettu ainoastaan ammattimaiseen laboratoriokäyttöön; soveltuvan pätevyyden saaneen henkilöstön on tulkittava kaikki tulokset ottaen huomioon muut asiaankuuluvat testitulokset.

Tätä tuotetta ei ole validoitu käytettäväksi sellaisen näyte- tai tautityyppien kohdalla, joita ei ole määritetty aiotussa käyttötarkoituksessa.

FISH-tulosten raportoinnin ja tulkinnan on oltava yhdenmukainen ammattimaisten käytäntöstandardien kanssa, ja niissä on otettava huomioon muut kliiniset ja diagnostiset tiedot. Sarja on tarkoitettu muiden diagnostisten laboratorioiden apuvälineeksi, eikä hoitotoimia saa käynnistää yksinomaan FISH-tuloksen perusteella.

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

Tätä sarjaa ei ole validoitu mainitusta aiotusta käyttötarkoituksesta poikkeavaan käyttöön.

Aiottu käyttötarkoitus

CytoCell EV11 (MECOM) Breakpart Probe irrotettava koetin on kvalitatiivinen, ei-automatisoitu FISH (fluorescence *in situ* hybridisation) -testi, jota käytetään kromosomin 3 alueeseen 3q26.2 liittyvien kromosomien uudelleenjärjestyymiä havaitsemiseen Carnoy'n liuokseen (3:1 metanoli/etikahappo) fiksatoituille, hematologisesti johdetuille solususpensioille potilailta, joilla on epäilty akuutti myeloinen leukemia (AML) tai myelodysplastinen oireyhtymä (MDS).

Käyttöaiheet

Tämä tuote on suunniteltu käytettäväksi muiden kliinisten ja histopatologisten testien lisäksi vakiintuneissa diagnostiikan ja kliinisen hoidon hoitopoluissa, joissa EV11 (MECOM) -translokaation tilan tunteminen olisi tärkeää kliiniseen hoidolle.

Testin periaatteet

Fluoresenssi *in situ* -hybridisaatio (FISH) on tekniikka, jonka avulla DNA-sekvenssejä voidaan havaita metafaasikromosomeista tai fiksatoitujen 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 tumorien kromosomianalyysiin. Kohde-DNA on fiksation ja denaturaation jälkeen saatavilla palautumiseksi samalla tavoin denaturoituu, fluoresenssimerkittyyn DNA-koettiin, 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 syöväissä, jotka ovat lähtöisin imusolmukkeesta.

MECOM-koodaa sinkkisormiproteiinin, joka ilmenee virheellisesti leukemiasoluissa 2–5 prosentissa AML- ja MDS-potilaita¹. Tämä dereguloitu ilmentymisen johtuu usein kromosomien uudelleenjärjestymisestä, jossa on mukana 3q26.2, ja kaksi yleisintä poikkeusta ovat t(3;3)(q21;q26.2) ja inv(3)(q21q26.2)¹. Translokaatioiden ja inversioiden katkoskohdat vaihtelevat huomattavasti.

Inversion katkoskohtia tavataan MECOM-geenin sentromeerisellä puolella ja MECOM-geeni mukaan lukien, ja ne kattavat noin 600 kb. Suurin osa katkoskohdista translokaatioissa 3q26.2 ovat telomeerisia MECOM-geenin nähdän ja kattavat alueen, johon sisältyy MDS1-geenin telomeerinen pää ja MYNN-geeni².

Kromosomien uudelleenjärjestymät, joissa on mukana alue 3q26.2, on yhdistetty myelooisiin syöpiin, MECOM-geenin epänormaaliin ilmentymiseen, epäsuotuisaan ennusteeseen sekä aggressiiviseen kliiniseen etenemiseen².

AML ja inv(3)(q21q26.2) tai t(3;3)(q21;q26.2) on tunnistettu tautikokonaisuus Maailman terveysjärjestön (WHO) myelooisten neoplasmien ja akuuttien leukemioiden luokituksen mukaisesti. Tämä on transformoitunut tai de novo -AML, jonka eteneminen on hyvin aggressiivista, ja poikkeamissa on mukana MECOM kohdassa 3q26.2 ja RPN1 (riboforiini I) paikassa 3q21³.

MECOMin on myös osoitettu olevan uudelleenjärjestynyt hoitoon liittyvissä sairauksissa translokaation t(3;21)(q26.2;q22) kautta, mistä seuraa MECOM-RUNX1-fuusio^{3,4}.

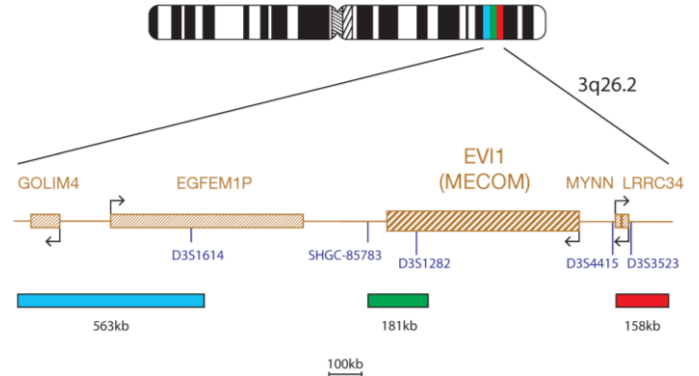
MECOM-uudelleenjärjestymät ovat hyvin heterogeenisiä ja niitä voi olla vaikea havaita perinteisen sytogenetiikan keinoin, jolloin FISH on hyödyllinen työkalu niiden havaitsemiseen.

Koettimen tekniset tiedot

EV11, 3q26.2, punainen

EV11, 3q26.2, vihreä

EV11, 3q26.2, sininen



EV11-koetin seoksen punainen komponentti sisältää 158 kb:n koettimen, joka on telomeerinen D3S4415-markkerille ja sisältää LRRCC34-geenin. Vihreä komponentti kattaa 181 kb:n alueen, johon sisältyy EV11 (MECOM) -geenin sentromeerinen osa, ja se ylittää D3S1282-markkerin yli. Sininen komponentti kattaa 563 kb:n alueen EV11-geenin sentromeerisessä osassa, 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 (formamid, dekstraanisulfaatti, suolaliuos-natriumsitraatti (SSC)), ja ne ovat valmiita käytettäväksi.

Vastaväri: 150 µl pulloa kohti (15 testiä)

Vastaväri on DAPI häpyymistä ehkäisevä (ES: 0,125 µg/ml DAPI (4,6-diamidino-2-fenyyli-indoli)).

Varoitukset ja varotoimet

1. Tarkoitettu *in vitro*-diagnostiikkakäyttöön. Vain ammattikäyttöön.
2. Käytä käsitteitä käsitellessäsi DNA-koettimia ja DAPI-vastaväriä.
3. Anturiseokset sisältävät formamidia, joka on teratogeeni: älä hengitä höyryä sisään tai päästä ainetta kosketuksiin ihon kanssa. Käsiteltävä varoen: käytä käsitteitä ja laboratoriotaikkia.
4. DAPI on potentiaalinen karsinogeeni. Käsiteltävä varoen: käytä käsitteitä ja laboratoriotaikkia.
5. Hävitä kaikki vaaralliset materiaalit laitoksesi vaarallisten jätteiden hävittämisestä koskevien ohjeiden mukaan.
6. Käyttäjien on pystyttävä erottamaan toisistaan punainen, sininen ja vihreä väri.
7. Mikäli hahmoteltua protokollaa ei noudateta ja sen mukaisia reagenssejä ei käytetä, se saattaa vaikuttaa suorituskykyyn ja johtaa virheellisiin positiivisiin/negatiivisiin tuloksiin.
8. Koetinta ei saa laimentaa tai sekoittaa muiden anturien kanssa.

9. Mikäli 10 µl:n koetinta ei käytetä protokollan esidenaturaatiovaiheessa, se saattaa vaikuttaa suorituskykyyn ja johtaa virheellisiin positiivisiin/negatiivisiin tuloksiin.

Säilytys ja käsittely

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



Koetin pysyy vakaana normaalissa käytössä ilmenevien pakastus- ja sulatusjaksojen ajan (jolloin yhden jakson aikana koetin poistetaan pakastimesta ja laitetaan takaisin pakastimeen), ja se on fotostabiili jopa 48 tuntia altistuttuaan jatkuville valaistusolosuhteille. On ryhdyttävä kaikkiin mahdollisiin toimenpiteisiin valolle ja lämpötilan muutoksille altistumisen rajoittamiseksi.

Laitteisto ja materiaalit Tarvitavat mutta pakkaukseen sisällytymättömät

Kalibroituja laitteistoja 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. Vesikylypy tarkalla lämpötilan hallinnalla 37 °C:n ja 72 °C:n lämpötilassa
4. Mikrosentrifugiletkut (0,5 ml)
5. Fluoresenssimikroskooppi (katso Fluoresenssimikroskooppisuositus-osiota)
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. Kostutettusäiliö
11. Fluoresenssiluokan mikroskooppilinnin immersioöljy
12. Työpöytäsentrifugi
13. Mikroskooppibjektilasi
14. 24 x24 mm:n peitelasi
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

Tarvitavat reagenssit, jotka eivät sisälly pakkaukseen

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

Fluoresenssimikroskooppisuositus

Käytä 100 watin elohopealampua tai vastaavaa ja öljyimmersion suunnitelman 60/63x- tai 100x-apokromaattiohjelmia parhaaseen mahdolliseen visualisointiin. Tässä koetinsarjassa käytettävät loisteaineet virittyvät ja säteilevät seuraavilla aaltopituuksilla:

Loisteaine	Viritys _{max} [nm]	Emissio _{max} [nm]
Sininen	418	467
Vihreä	495	521
Punainen	596	615

Varmista, että mikroskooppiin on sovitettu asianmukaiset viritys- ja emissiosuodattimet, jotka kattavat yllä luetellut aallonpituudet. Käytä DAPI-/vihreän spektrin/punaisen spektrin kolmoiskaistanpäästösuodatinta tai vihreän spektrin/punaisen spektrin kaksiskaistanpäästösuodatinta vihreän ja punaisen loisteaineen optimaaliseen samanaikaiseen visualisointiin. Käytä sinisen spektrin yksinkertaista kaistanpäästösuodatinta sinisen spektrin optimaaliseen visualisointiin tai punaisen spektrin/vihreän spektrin/sinisen spektrin kolmoiskaistanpäästösuodatinta vihreän, punaisen ja sinisen loisteaineen 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 häilymistä ehkäisevän DAPIn sekoittamista mikroskoopin immersioöljyn kanssa, sillä se hämärtää signaaleita. Noudata valmistajien suosituksia lampun käyttöön ja suodatinten iän suhteen.

Näytteen valmistelu

Sarja on suunniteltu käytettäväksi hematologisesti johdettuihin solususpensioihin, jotka on fiksatoitu Carnoyn liuosfiksatiiviiin (3:1 metanoli/etikkahappo), jotka on valmistettu laboratorion tai laitoksen suuntaviivojen mukaisesti. Valmistele ilmakuivatut näytteet mikroskoopin objektiivilaseille sytogeneettisten vakiotoimenpiteiden mukaisesti. AGT-sytogeneetikalaboratorion opaskirja sisältää suosituksia näytteen keräämisestä, viljelystä, poiminnasta ja objektiivilasein valmistelusta⁵.

Liuosien valmistus

Etanoliliuokset

Laimenna 100 % etanoli akkuviedellä seuraavissa suhteissa ja sekoita huolellisesti.

- 70 % etanolia – 7 osaa 100 % etanolia ja 3 osaa akkuvettä
- 85 % etanolia – 8,5 osaa 100 % 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 vetykloridia 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 vetykloridia tarpeen mukaan. Säilytä liuosta enintään 4 viikkoa huoneenlämpötilassa ilmatiiviissä säiliössä.

2 x SSC, 0,05 % 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 vetykloridia tarpeen mukaan. Säilytä liuosta enintään 4 viikkoa huoneenlämpötilassa ilmatiiviissä säiliössä.

FISH-protokolla

(Huomautus: Varmista, että koettimen ja vastaväriin altistuminen laboratoriovälillä on aina rajallista).

Objektiivilasin valmistelu

1. Laita pisara solunäytettä mikroskooppibjektilasilille. Anna kuivua. (Vaihtoehtoisesti, jos käytetään sytogeneettistä kuivauskammiota: mikroskooppibjektilasilille on asetettava pisara näytettä sytogeneettisen kuivauskammion avulla. 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 objektiivilasi 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 näyteobjektiivilasi esilämpimään 37 °C:n (+/- 1 °C) lämpölevylle 5 minuutiksi.
9. Laita 10 µl koetinseosta sdunäytteelle ja aseta peitelasi varoen paikalleen. Sulje kumiliuosliimalla ja anna liiman kuivua täysin.

Denaturaatio

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

Hybridisaatio

11. Laita objektiivilasi 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 objektiivilasi 0,4 x SSC-liuokseen (pH 7,0) 2 minuutiksi 72 °C:n (+/- 1 °C) lämpötilassa ravistamatta.
15. Tyhjennä objektiivilasi ja upota se 30 sekunniksi 2 x SSC-liuokseen ja 0,05 % Tween-20-liuokseen huoneenlämpötilassa (pH 7,0) ravistamatta.
16. Tyhjennä objektiivilasi ja laita kuhunkin näytteeseen 10 µl häilymistä ehkäisevää DAPIn.
17. Peitä peitelasilla, poista mahdolliset kuplat ja anna värin kehittyä pimeässä 10 minuuttia.
18. Tarkastele fluoresenssimikroskooppilla (katso Fluoresenssimikroskooppisuositus).

Valmiiden objektiivilasein vakaus

Valmiita objektiivilaseja voidaan analysoida enintään 1 kuukausi, mikäli niitä säilytetään pimeässä huoneenlämpötilassa tai sitä matalammassa lämpötilassa.

Toimenpidesuosituks

1. Objektiivilasein sintraaminen tai ikäännyttäminen saattaa heikentää signaalin fluoresenssia
2. Muiden kuin Cytocell Ltd -yhtiön toimittamien tai suosittelemien reagenssien käyttö saattaa vaikuttaa haitallisesti hybridisaatio-olosuhteisiin.
3. Käytä liuosten, vesikylypyjen ja inkubaattorien lämpötilojen mittaukseen kalibroituja lämpömittareita, sillä nämä lämpötilat ovat ratkaisevan tärkeitä tuotteen optimaalisen suorituskyvyn kannalta.
4. Pesupitoisuudet, pH-arvo ja lämpötilat ovat tärkeitä, sillä liiallinen löyhys 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 hybridaatio saattaa johtaa ylimääräisiin tai odottamattomiin signaaleihin.
7. Käyttäjien on optimoitava omien näytteidensä protokolla ennen testin käyttöä.
8. Suboptimaaliset olosuhteet saattavat johtaa epäspesifiseen sitoutumiseen, jotka saatetaan tulkita koetinsignaaleiksi.

Tulosten tulkitseminen

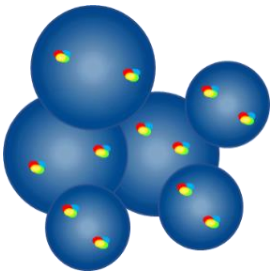
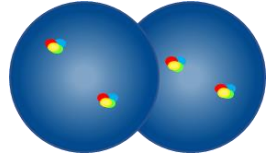
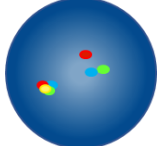
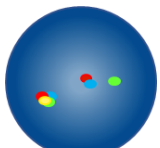
Objektiivilasin laadun arviointi

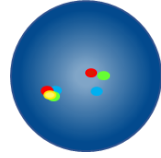
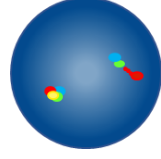
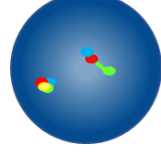
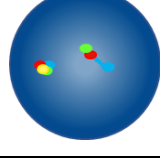
Objektiivilasia ei tarvitse analysoida, jos:

- Yksittäisten signaalien 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 puhtaana
- Solun tumaa rajoja ei voida erottaa, eivätkä ne ole eheitä

Analysointiohjeet

- Kahden analyytikon pitäisi analysoida ja tulkita jokainen näyte. Kaikki eriytyvät 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 hybridaatiota.
- Signaalin intensiteetti saattaa vaihdella yksittäisenkin tumaa 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.
- Analysoitaessa kolmivärisiä irrotettavia koettimia, signaalit on laskettava muiksi kuin uudelleenjärjestellyiksi fuusioituneiksi, jos punaisen, vihreän ja sinisen signaalien välinen rako on enintään kahden signaalileveyden kokoinen.
- Mikäli on epäilystä siitä, voidaanko solu analysoida, älä analysoi sitä.

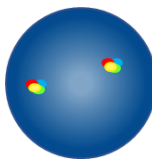
Analysointiohjeet	
	Älä laske – tumat ovat liian lähekkäin, jotta rajoja voisi määrittää
	Älä laske päällekkäisiä tumia – kummankin tumaa kaikki alueet eivät ole näkyvissä
	Laske kahdeksi fuusiosignaalkiksi – punaisen ja vihreän/sinisen signaalien välinen rako on enintään kahden signaalileveyden kokoinen
	Laske kahdeksi fuusiosignaalkiksi – vihreän ja punaisen/sinisen signaalien välinen rako on enintään kahden signaalileveyden kokoinen

	Laske kahdeksi fuusiosignaalkiksi – sinisen ja punaisen/vihreän signaalien välinen rako on enintään kahden signaalileveyden kokoinen
	Laske kahdeksi fuusiosignaalkiksi – oikeanpuoleisessa yläfuusiossa punaisen signaali on hajanainen
	Laske kahdeksi fuusiosignaalkiksi – oikeanpuoleisessa yläfuusiossa vihreä signaali on hajanainen
	Laske kahdeksi fuusiosignaalkiksi – oikeanpuoleisessa yläfuusiossa sinisen signaali on hajanainen

Odotettavissa olevat tulokset

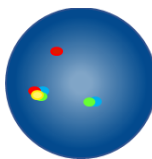
Kolmen värin strategia osoittaa translokaation tai inversion ilmenemisen ja mahdollistaa kunkin erilaisen uudelleenjärjestymän tyyppien erottamisen.

Odotettavissa oleva normaali signaalikuvi

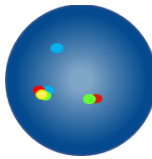


Tavallisessa solussa on odotettavissa kaksi punaista/vihreää/sinistä samalle alueelle paikantuvaa signaalia (2PVS).

Odotettavissa olevat epänormaalit signaalikuvot



Jos solussa on t(3;m)(q21;n)-translokaatio, odotettavissa oleva signaalikuvi on yksi punainen, yksi vihreä/sininen fuusio ja yksi punainen/vihreä/sininen fuusiosignaali (1P, 1VS, 1PVS).



Jos solussa on inversio inv(3)(q21q26.2), odotettavissa oleva signaalikuvi on yksi punainen/vihreä fuusio, yksi erillinen sininen signaali ja yksi punainen/vihreä/sininen fuusiosignaali (1PV, 1S, 1PVS).

Muut signaalikuvot ovat mahdollisia aneuploidisissa / epätasapainoisissa näytteissä.

Tunnettu ristireaktiivisuus

Ei tunnettua ristireaktiivisuutta.

Haittatapahtumista raportointi

Jos uskot, että tässä laitteessa on ilmennyt toimintahäiriö tai että sen suorituskyvön ominaisuuksissa on tapahtunut huononemista, joka on saattanut myötävaikuttaa haittatapahtumaan (esim. viivästynyt tai virheellinen diagnoosi, viivästynyt tai epäasianmukainen hoito), tästä on ilmoitettava välittömästi valmistajalle (**sähköposti:** vigilance@ogt.com).

Soveltuvien osin tapahtumasta on ilmoitettava myös kansallisille toimivaltaisille viranomaisille. Luettelo vaaratilanteiden yhteystiedoista on seuraavassa osoitteessa: <http://ec.europa.eu/growth/sectors/medical-devices/contacts/>.

Erityiset suorituskyöminaisuudet Analyttinen spesifisyys

Analyttinen spesifisyys on prosenttiosuus signaaleista, jotka hybridisoidaan oikeaan lokukseen eikä muihin sijainteihin. Analyttinen spesifisyys määritettiin analysoimalla yhteensä 200 kohdelokusta. Analyttinen spesifisyys laskettiin sellaisten FISH-signaalien määräksi, jotka hybridisoituivat oikeaan lokukseen jaettuna hybridisoituneiden FISH-signaalien kokonaismäärällä.

Taulukko 1. EVI1 Breakapart Probe irrotettavan koettimen analyttinen spesifisyys

Koetin	Kohdelokus	Oikeaan lokukseen hybridisoituneiden signaalien määrä	Kaikkien hybridisoituneiden signaalien kokonaismäärä	Spesifisyys (%)
Punainen EVI1	3q26	200	200	100
Vihreä EVI1	3q26	200	200	100
Sininen EVI1	3q26	200	200	100

Analyttinen herkkyys

Analyttinen herkkyys on prosenttiosuus tulosten laskennassa käytettävistä interfaasisoluista, joiden odotettavissa oleva signaalikuvio on normaali. Analyttinen herkkyys määritettiin analysoimalla interfaasisolujen erilaisten normaalien näytteiden halki. Herkkyys laskettiin prosenttiosuudeksi tulosten laskennassa käytettävistä interfaasisoluista, joilla on odotettavissa oleva signaalikuvio (95%:n luottamusväli).

Taulukko 2. EVI1 Breakapart Probe irrotettavan koettimen analyttinen herkkyys

Sellaisten solujen määrä, joilla on odotettavissa olevat signaalikuviot	Sellaisten solujen määrä, joilla on tulosten laskennassa käytettävät signaalit	Herkkyys (%)	95%:n luottamusväli
4957	5000	99,14	98,84 – 99,36

Normaalien raja-arvojen luokittelu

Normaali raja-arvo on yhdessä FISH-koettimen kanssa maksimiprosenttiosuus tulosten laskennassa käytettävistä interfaasisoluista, joilla on spesifinen epänormaali signaalikuvio, jonka kohdalla näyte katsotaan normaaliksi kyseisen signaalikuvion osalta.

Normaali raja-arvo määritettiin uudelleenjärjestymälle negatiivisista näytteistä, jota koetin on tarkoitettu tunnistamaan, ja käyttäen käänteistä beetafunktiota. Kaksi analyttikkoa kirjasi toisistaan riippumatta 100 interfaasituman signaalikuvioita, yhteensä 200 näytettä kohden.

Taulukko 3. EVI1 Breakapart Probe irrotettavan koettimen normaalien raja-arvojen luokittelu

Epänormaali signaalikuvio	Raja-arvon määrittämisessä analysoitujen näytteiden lukumäärä	Näytettä kohden analysoitujen tumien lukumäärä	Väriä positiivisten signaalikuvioiden suurin lukumäärä	Normaali raja-arvo (%)
1P, 1VS, 1PVS	25	200	3	4
1PV, 1S, 1PVS	25	200	3	4

Laboratorioiden on tarkistettava raja-arvot käyttäen omia tietojään^{6, 7}.

Uusittavuus

Uusittavuus määritettiin kolmessa erillisessä laboratoriossa, jotka testasivat kuusi sokkonäytettä (kaksi negatiivisia uudelleenjärjestymän osalta, kaksi heikosti positiivista näytettä, joissa oli 1–3-kertainen raja-arvo, ja kaksi vahvasti positiivista näytettä, jotka sisälsivät yli 45 prosenttia uudelleenjärjestymälle positiivisia soluja). Analyysi tehtiin käyttäen kahta kopiota jokaisesta näytteestä viiden ei-peräkkäisen päivän aikana.

Kaikissa kolmessa kohteessa suoritettiin testaus käyttäen samaa koetinerää, ja yksi kohde suoritettiin myös erän sisäisen uusittavuustestin käyttäen kolmea eri koetinerää.

Uusittavuus laskettiin käyttäen kunkin testin aikana tutkittujen muuttujien yhtäpitävyyttä.

Taulukko 4. EVI1 Breakapart Probe irrotettavan koettimen uusittavuus ja tarkkuus

Signaali	Uusittavuustutkimus	Näyte	Yhtäpitävyys (%)
Inversio (1PV, 1S, 1PVS)	Päivänsäinen / päiviväläinen / kohteidenväläinen	Negatiivinen	100
		Vahvasti positiivinen	100
	Eränsäinen	Negatiivinen	92
		Vahvasti positiivinen	100
Translokaatio (1P, 1VS, 1PVS)	Päivänsäinen / päiviväläinen / kohteidenväläinen	Negatiivinen	100
		Vahvasti positiivinen	100
	Eränsäinen	Negatiivinen	100
		Vahvasti positiivinen	100

Kliininen suorituskyky

Kliininen suorituskyky määritettiin käyttäen valikoimattomien potilaiden edustavaa joukkoa, jotka olivat saaneet lähetteen AML:n tai MDS:n vuoksi, ja 100:aa kohteesta kerättyä näytettä. Koettimen havaitsemien uudelleenjärjestymien ilmenemisprosentteja verrattiin kirjallisuuskatsauksen tuloksiin.

Tämän vertailun mahdollistamiseksi kirjallisuuden osoittama luottamusväli 100 näytteen populaation koolta laskettiin laskemalla "1-sample proportions test with continuity correction" -testillä.

Taulukko 5. EVI1 Breakapart Probe irrotettavan koettimen kliininen suorituskyky

Uudelleenjärjestely	Prevalenssi			
	Kirjallisuuskatsaus (%)	95% LCI (%)	Kliininen tutkimus (%)	95% UCL (%)
AML ja inv(3)/t(3;3)/MECOM-uudelleenjärjestymät	1,3	0,1	4	6,7
MDS ja MECOM-uudelleenjärjestymät	0,4	0		5,3

Lisätietoja

Tuotteita koskevia lisätietoja on saatavilla ottamalla yhteyttä CytoCellin teknisen tuen osastoon.

Puh.: +44 (0)1223 294048

Sähköposti: techsupport@cytozell.com

Verkkosivut: www.ogt.com

Viitteet

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

Symboliopas

REF	fi: Kuvastonumero
	fi: Lääkinnällinen laite <i>in vitro</i> -diagnostiikkaan
	fi: Eräkoodi
	fi: Tutustu käyttöohjeisiin
	fi: Valmistaja
	fi: Käytön eräpäivä
	fi: Lämpötilaraja
	fi: Pidettävä poissa auringonvalosta
	fi: Riittävä sisältö <n> testiin
	fi: Sisältö

Patentit ja tavaramerkit

CytoCell on CytoCell Ltd.:n rekisteröity tavaramerkki.



CytoCell Ltd.

3-4 Technopark
Newmarket Road
Cambridge, CB5 8PB, UK.

Puh.: +44 (0) 1223 294048

F: +44 (0) 1223 294986

Sähköposti: probes@cytoCell.com

Verkkosivut: www.ogt.com