



A Sysmex Group Company



## Käyttöohje

REF: LPH 007-S / LPH 007

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



VAIN AMMATIKÄYTTÖÖN



www.cytocell.com

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

#### Rajoitukset

Laite on suunniteltu havaitsemaan uudelleenjärjestymiä, joissa on katkoskohtia koetinsarjan punaisten ja vihreiden kloonien rajaamalla alueilla, joihin sisältyvät *BCR*- ja *ABL1*-alueet. Tämä tuote ei ehkä havaitse kyseisen alueen ulkopuolisia katkoskohtia tai vaihtoehtoisia uudelleenjärjestymiä, jotka sisältyvät kokonaisuudessaan tälle alueelle.

Testiä ei ole tarkoitettu käytettäväksi riippumattomaan diagnostiikkaan, raskausajan tutkimuksiin, väestöpohjaiseen seulontaan, vieritestaukseen tai itsetestaukseen. 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 laboratoriostien 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 aiosta käyttötarkoituksesta poikkeavaan käyttöön.

#### Aiottu käyttötarkoitus

CytoCell BCR/ABL (ABL1) Translocation, Dual Fusion Probe -koetin on kvalitatiivinen, ei-automatisoitu FISH (fluorescence *in situ* hybridisation) -testi, jota käytetään havaitsemaan kromosomien uudelleenjärjestymiä kromosomin 22 alueen q11.2 ja kromosomin 9q34.1-alueen välillä Carnoy'n liuokseen (3:1 metanoli/etikkahappo) fiksatoituille, hematologisesti johdetuille solususpensioille potilaita, joilla on vahvistettu tai epäilty krooninen myeloinen leukemia (KML), akuutti myeloinen leukemia (AML) tai akuutti lymfaattinen leukemia (ALL).

#### Käyttöaiheet

Tämä tuote on suunniteltu käytettäväksi muiden kliinisten ja histopatologisten testien lisäksi vakiintuneissa diagnostiikan ja kliinisen hoidon hoitopoluissa, joissa *BCR-ABL*-translokaation tilan tunteminen olisi tärkeää kliiniselle hoidolle.

#### Testin periaatteet

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

#### Koettimen tiedot

*BCR* (*RhoGEF:n* ja *GTPasen BCR-aktivaattori*)-geeni sijaitsee alueella 22q11.23 ja *ABL1* (*ABL proto-onkogeeni 1, ei-reseptori tyrosiinkinaasi*)-geeni sijaitsee alueella 9q34.12. Näiden kahden geenin välinen translokaatio synnyttää *BCR-ABL1*-fuusiogeenin ja tuottaa Philadelphia-kromosomin; translokaation näkyvän tuloksen.

*BCR-ABL1*-fuusion esiintymisellä on merkittäviä seurauksia diagnoosin ja ennusteen kannalta useissa hematologisissa sairauksissa.

Translokaatio t(9;22)(q34.12;q11.23) on kroonisen myeloisen leukemian (KML) tunnusmerkki, ja se on havaittavissa noin 90–95 prosentissa tapauksista<sup>1</sup>. Muissa tapauksissa esiintyy jokin muu versio translokaatiosta tai niissä on epäselvä uudelleenjärjestely, jossa ovat mukana 9q34 ja 22q11.23 ja jota ei voida tunnistaa rutiinomaisella sytogeneettisellä analyysillä<sup>1</sup>.

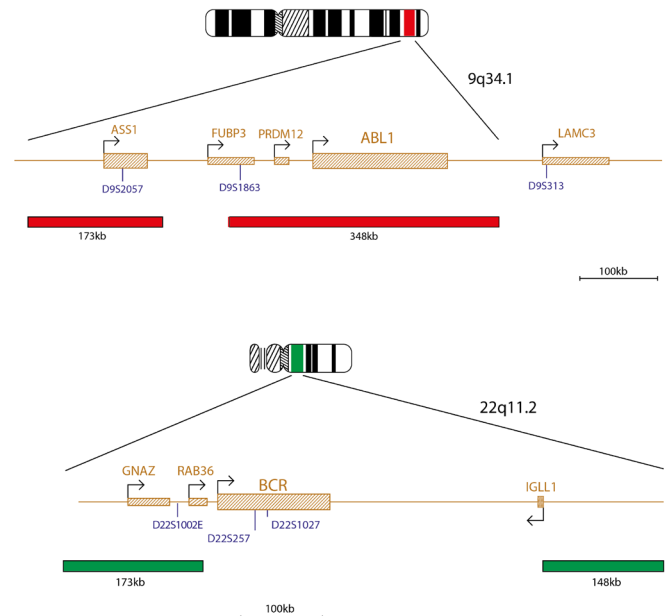
*BCR-ABL1*-fuusio esiintyy myös 25 prosentissa aikuisten akuutteja lymfaattisia leukemioita (ALL) ja 2–4 prosentissa lapsuusaikaisen ALL-leukemioista<sup>1</sup>. *BCR-ABL1*-fuusion esiintymisen on todettu viittaavan huonoon ennusteeseen ALL-leukemioissa niin aikuisilla kuin lapsilla<sup>1,2</sup>. Siksi poikkeavuuden havaitsemisella on suuri merkitys hoito- ja hallintapäätöksiin vaikuttavan riskiluokituksen kannalta<sup>2</sup>. Pienessä määrässä ALL-tapauksia translokaatiosta ei synny sytogeneettisesti näkyvää Philadelphia-kromosomia. Näissä tapauksissa FISH on välttämätön fuusiogeenin korostamiseksi<sup>3</sup>.

Tätä uudelleenjärjestymää nähdään myös harvinaisissa akuutin myeloisen leukemian (AML) tapauksissa. Philadelphia-positiiviselle AML-leukemialle on tyypillistä sen vastustuskyky tavalliselle kemoterapialle ja huono ennuste<sup>4</sup>, joten tämän kromosomipoikkeavuuden tarkka ja nopea tunnistaminen on elintärkeää.

#### Koettimen tekniset tiedot

ABL1, 9q34.1, punainen

BCR, 22q11.2, vihreä



Vihreä koetinseos sisältää 173 kb:n koettimen, joka on sentromeerinen *BCR*-geenille 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 koetinseos sisältää 348 kb:n koettimen, joka kattaa *ABL1*-geenin, ja 173 kb:n 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 (formamidi, dekstraanisulfaatti, suolaliuos-natriumsitraatti (SSC)), ja ne ovat valmiita käytettäväksi.

**Vastaväri:** 150 µl pulloa kohti (15 testiä)

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

#### Varoitukset ja varoimet

1. Tarkoitettu *in vitro*-diagnostiikkakäyttöön. Vain ammattikäyttöön.
2. Käytä käsineitä käsitellessäsi DNA-koettimia ja DAPI-vastaväriä.
3. Anturiseokset sisältävät formamidiä, joka on teratogeeni: älä hengitä höyryjä sisään tai päästä ainetta kosketuksiin ihon kanssa. Käsiteltävä varoen: käytä käsineitä ja laboratoriotakkaa.
4. DAPI on potentiaalinen karsinogeeni. Käsiteltävä varoen: käytä käsineitä ja laboratoriotakkaa.
5. Hävitä kaikki vaaralliset materiaalit laitoksesi vaarallisten jätteiden hävittämistä koskevien ohjeiden mukaan.
6. Käyttäjien pystyttävä erottamaan toisistaan punainen, sininen ja vihreä väri.

- Mikäli hahmoteltua protokollaa ei noudateta ja sen mukaisia reagensseja ei käytetä, se saattaa vaikuttaa suorituskykyyn ja johtaa virheellisiin positiivisiin/negatiivisiin tuloksiin.
- Koetinta ei saa laimentaa tai sekoittaa muiden anturien kanssa.
- 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  $-25\text{ }^{\circ}\text{C}$  ...  $-15\text{ }^{\circ}\text{C}$ :n lämpötilassa sarjan etiketissä ilmoitettuun eräpäivään saakka. Koetinta ja vastaväripulloja 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 Tarvittavat mutta pakkaukseen sisällymättömät

Kalibroituja laitteistoja on käytettävä:

- Lämpölevy (kiinteällä levyllä ja tarkalla lämpötilan hallinnalla  $80\text{ }^{\circ}\text{C}$ :n lämpötilaan saakka)
- Kalibroidut tilavuudeltaan vaihtelevat mikropipetit ja kärjet, 1–200 µl
- Vesikylypy tarkalla lämpötilan hallinnalla  $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ :n ja  $72\text{ }^{\circ}\text{C}$ :n lämpötilassa
- Mikrosentrifugiletkut (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 mikroskooppilinnin immersioöljy
- Työpöytäseentrifugi
- Mikroskooppiobjekttilasi
- 24 x 24 mm:n peitelasit
- Ajastin
- $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ :n inkubaattori
- Kumiliuosliima
- Pyörresekoitin
- Mittasylinterit
- Magneettinen sekoitin
- Kalibroitu lämpömittari

#### Valinnainen laitteisto, ei sisälly pakkaukseen

- Sytogeneettinen kuivauskammio

#### Tarvittavat reagenssit, jotka eivät sisälly pakkaukseen

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

#### Fuoresenssimikroskooppisuositus

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

Loisteaine	Viritys <sub>maks</sub> [nm]	Emissio <sub>maks</sub> [nm]
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 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 fluoresenssimikroskoopille 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 Carnoy'n liuosfiksatiiviiin (3:1 metanoli/etikahappo), jotka on valmistettu laboratorion tai laitoksen suuntaviivojen mukaisesti. Valmistele ilmakuivatut näytteet mikroskoopin objektivilaseille sytogeneettisten vakiotoimenpiteiden mukaisesti. AGT-sytogenetiikkalaboratorion opaskirja sisältää suosituksia näytteen keräämisestä, viljelystä, poiminnasta ja objektivilasien valmistelusta<sup>5</sup>.

#### Liuksen valmistus

##### Etanoliiliuokset

Laimenna 100 % etanoli akkuedellä seuraavissa suhteissa ja sekoita huolellisesti.

- 70 % etanolia – 7 osaa 100 % etanolia ja 3 osaa akkuedettä
- 85 % etanolia – 8,5 osaa 100 % etanolia ja 1,5 osaa akkuedettä

Säilytä liuosta enintään 6 kuukautta huoneenlämpötilassa ilmatiiviissä säiliössä.

##### 2 x SSC-liuos

Laimenna 1 osa 20 x SSC-liuosta 9 osaan akkuedettä 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 akkuedettä 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 akkuedettä. 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 vastavärin altistuminen laboratoriovalolle on aina rajallista).

#### Objektiivilasin valmistelu

- Laita pisara solunäytettä mikroskooppiobjekttilasille. Anna kuivua. (Vaihtoehtoisesti, jos käytetään sytogeneettistä kuivauskammiota: mikroskooppiobjekttilasille on asetettava pisara näytettä sytogeneettisen kuivauskammion avulla. Kammiota on käytettävä noin  $25\text{ }^{\circ}\text{C}$ :n lämpötilassa ja 50 %:n kosteudessa, jotta solunäytepisara voidaan asettaa optimaalisesti lasille. Mikäli sytogeneettistä kuivauskammiota ei ole saatavilla, käytä vaihtoehtoisesti vetokaappia).
- Upota objektiivilasi 2 x SSC-liuokseen 2 minuutiksi huoneenlämpötilassa ravistamatta.
- Kuivaa kutakin etanolisarjassa (70 %, 85 % ja 100 %) 2 minuuttia huoneenlämpötilassa.
- Anna kuivua.

#### Esidenaturaatio

- Poista koetin pakastimesta ja anna sen lämmetä huoneenlämpötilaan. Sentrifugoi putkia lyhyen aikaa ennen käyttöä.
- Varmista, että koetinliuos on sekoitettu yhtenäisesti pipetillä.
- Poista 10 µl koetinta testiä kohti ja siirrä se mikrosentrifugiputkeen. Palauta jäljelle jäänyt koetin nopeasti pakastimeen.
- Aseta koetin ja näyteobjektiivilasi esilämpimään  $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ :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 lämpölevylle 2 minuutin ajan  $75\text{ }^{\circ}\text{C}$ :n (+/- 1 °C) lämpötilaan.

#### Hybridisaatio

- Laita objektiivilasi yöksi kosteaan valonkestävään säiliöön  $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ :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  $72\text{ }^{\circ}\text{C}$ :n (+/- 1 °C) lämpötilassa ravistamatta.
- Tyhjennä objektiivilasi ja upota se 30 sekunniksi 2 x SSC-liuokseen ja 0,05 % Tween-20-liuokseen huoneenlämpötilassa (pH 7,0) ravistamatta.
- Tyhjennä objektiivilasi ja laita kuhunkin näytteeseen 10 µl häilymistä ehkäisevää DAPIa.
- Peitä peitelasilla, poista mahdolliset kuplat ja anna värin kehittyä pimeässä 10 minuuttia.
- Tarkastele fluoresenssimikroskoopilla (katso Fluoresenssimikroskooppisuositus).

#### Valmiiden objektiivilasien vakaus

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

#### Toimenpidesuositukset

- 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, vesikylypyjen ja inkubaattorien lämpötilojen mittaukseen kalibroituja lämpömittaria, sillä nämä lämpötilat ovat ratkaisevan tärkeitä tuotteen optimaalisen suorituskyvyn kannalta.
- Pesupitoisuudet, pH-arvo ja lämpötilat ovat tärkeitä, sillä liiallinen löyhys 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.
- Suboptimaaliset olosuhteet saattavat johtaa epäspesifiseen sitoutumiseen, jotka saatetaan tulkita koetinsignaaleiksi.

#### Tulosten tulkitseminen

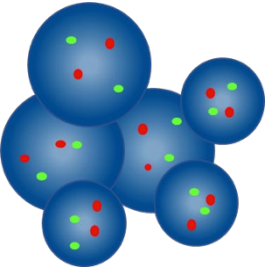
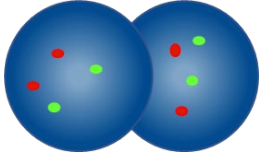
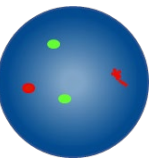
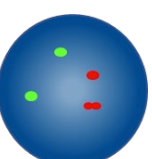
##### Objektiivilasin laadun arviointi

Objektiivilasia ei tarvitse analysoida, jos:

- Yksittäisten signaalien signaalit ovat liian heikkoja analysoitavaksi – jotta analyysia voidaan jatkaa, signaalien on näyttävä kirkkaina, selkeinä ja helposti arvioitavina
- Analyyysi 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 tumman rajoja ei voida erottaa, eivätkä ne ole eheitä

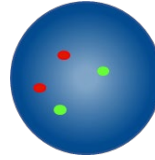
##### Analysointiohjeet

- Kahden analyytikon pitäisi analysoida ja tulkita jokainen näyte. Kaikki erivyydet on annettava kolmannen analyytikon arvioitavaksi
- Jokaisella analyytikolla on oltava sopiva pätevyys tunnustettujen kansallisten standardien mukaan.
- Jokaisen analyytikon pitäisi saada riippumattomasti 100 tumaa kustakin näytteestä. Ensimmäisen analyytikon pitäisi käynnistää analyysi objektiivilasin vasemmalta puolelta ja toisen analyytikon oikealta puolelta
- Kunkin analyytikon on dokumentoitava tuloksiaan erillisillä arkeilla
- Analyysoi 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 tumman 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 lähellä, jotta rajoja voisi määrittää
	Älä laske päällekkäisiä tumia – kummankin tumman kaikki alueet eivät ole näkyvissä
	Laske kahdeksi punaiseksi signaaliksi ja kahdeksi vihreäksi signaaliksi – toinen kahdesta punaisesta signaalista on hajanainen
	Laske kahdeksi punaiseksi signaaliksi ja kahdeksi vihreäksi signaaliksi – toisen punaisen signaalin rako on pienempi kuin kaksi signaali-levyettä

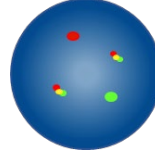
#### Odottavissa olevat tulokset

##### Odottavissa oleva normaali signaalkuvio



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

##### Odottavissa oleva epänormaali signaalkuvio



Solussa, jossa on translokaatio t(9;22)(q34.1;q11.2), odottavissa oleva signaalkuvio on yksi punainen, yksi vihreä ja kaksi fuusiota (1P, 1V, 2F).

Muut signaalkuviot ovat mahdollisia aneuploidisissa / epätasapainoisissa näytteissä.

##### Tunnettu ristireaktiivisuus

Vihreä BCR-distaalikoetin voi näyttää enintään 2 ristihybridisaatiosignaalia B-, C- tai E-ryhmän kromosomeissa.

##### Haittatapahtumista raportointinen

Jos uskot, että tässä laitteessa on ilmennyt toimintahäiriö tai että sen suorituskykyominaisuuksissa 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](mailto:vigilance@ogt.com)).

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

##### Erityiset suorituskykyominaisuudet

###### Analyttinen spesifisyys

Analyttinen spesifisyys on prosenttiosuus signaaleista, jotka hybridisoituvat oikeaan lokukseseen eikä muihin sijainteihin. Analyttinen spesifisyys määritettiin analysoimalla yhteensä 200 kohdelokusta. Analyttinen spesifisyys laskettiin sellaisten FISH-signaalien määräksi, jotka hybridisoituvat oikeaan lokukseseen jaettuina hybridisoituneiden FISH-signaalien kokonaismäärällä.

Taulukko 1. BCR/ABL Translocation, Dual Fusion Probe -koettimen analyttinen spesifisyys

Koetin	Kohdelokus	Oikeaan lokukseseen hybridisoituneiden signaalien määrä	Kaikkien hybridisoituneiden signaalien kokonaismäärä	Spesifisyys (%)
Punainen ABL1	9q34	200	200	100
Vihreä BCR	22q11	200	200	100

###### Analyttinen herkkyys

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

Taulukko 2. BCR/ABL Translocation, Dual Fusion Probe -koettimen analyttinen herkkyys

Sellaisten solujen määrä, joilla on odottavissa olevat signaalkuviot	Sellaisten solujen määrä, joilla on tulosten laskennassa käytettävät signaalit	Herkkyys (%)	95 %:n luottamusväli
481	500	96,2	1,4

##### Normaalien raja-arvojen luokittelu

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

Normaali raja-arvo määritettiin käyttämällä normaaleilta ja positiivisilta potilailta saatuja näytteitä. Kunkin näytteen kohdalla tallennettiin 100 solun signaalkuviot. Youden-indeksi laskettiin sellaisen kynnyksen löytämiseksi, jonka herkkyys + spesifisyys-1 on maksimoitu.

**Taulukko 3. BCR/ABL Translocation, Dual Fusion Probe -koettimen normaalien raja-arvojen luokittelu**

Epänormaali signaalikuvio	Youden-indeksi	Normaali raja-arvo (%)
1P, 1V, 2F	0,99	1

Laboratorioiden on tarkistettava raja-arvot käyttäen omia tietojaan<sup>6, 7</sup>.

**Tarkkuus ja uusittavuus**

Tarkkuus on testin luonnollisen vaihtelun mitta, kun testi toistetaan useita kertoja samoissa olosuhteissa. Tämä arvioitiin analysoimalla saman eränumeron koetinta, jota testattiin samalla näytteellä samoissa olosuhteissa ja samana päivänä.

Uusittavuus on testin vaihtelevuuden mitta, ja se on määritetty vaihtelevuutena näytteestä toiseen, päivästä toiseen ja erästä toiseen. Uusittavuutta päivästä toiseen arvioitiin analysoimalla samat näytteet kolmena eri päivänä. Uusittavuutta erästä toiseen arvioitiin analysoimalla samat näytteet käyttämällä kolmen eri eränumeron koettimia samana päivänä. Uusittavuutta näytteestä toiseen arvioitiin analysoimalla näytteen kolmea replikaatiota samana päivänä. Kunkin näytteen kohdalla tallennettiin 100 interfaasisolua ja laskettiin sellaisten solujen prosenttiosuus, joilla oli odotettavissa oleva signaalikuvio.

Uusittavuus ja tarkkuus laskettiin kunkin muuttujan replikaatioiden kokonaisvaltaisen keskimääräisen STDEV-arvon välisenä vakiopoikkeamana (STDEV).

**Taulukko 4. BCR/ABL Translocation, Dual Fusion Probe -koettimen uusittavuus ja tarkkuus**

Muuttuja	Vakiopoikkeama (STDEV)
Tarkkuus	0,00
Näytteestä toiseen	0,00
Päivästä toiseen	0,00
Erästä toiseen	0,00
Kokonaispoikkeama	0,00

**Kliininen suorituskyky**

Kliininen suorituskyky määritettiin näytteestä, joka edustaa tuotteen aiottua kohdeväestöä. Kunkin näytteen kohdalla tallennettiin  $\geq 100$  interfaasisolun signaalikuvioita. Normaali / epänormaali määrittäminen tehtiin vertaamalla sellaisen solujen prosenttiosuus, jolla oli spesifinen epänormaali signaalikuvio normaaliin raja-arvoon verrattuna. Tuloksia verrattiin sen jälkeen näytteen tunnettuun tilaan.

Kliinisten tietojen tulokset analysoitiin herkkyyden, spesifisyyden ja raja-arvojen aikaansaamiseksi yksilöiteistä lähestymistapaa käyttämällä.

**Taulukko 5. BCR/ABL Translocation, Dual Fusion Probe -koettimen kliininen suorituskyky**

Muuttuja	Tulos
Kliininen herkkyys (oikea positiivinen aste, TPR)	99,9%
Kliininen spesifisyys (oikea negatiivinen aste, TNR)	100%
Väärä positiivinen aste (FPR) = 1 – spesifisyys	0%

**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**

1. Swerdlow *et al.*, editors, WHO Classification of Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissues, Lyon, France, IARC:2008
2. Harrison *et al.*, *BJH* 2010;151:132-142
3. Van Rhee *et al.*, *Brj Haematol* 1995;90:225-8
4. Soupir *et al.*, *Am J Clin Pathol* 2007;127:642-650
5. Arsham, MS., Barch, MJ. and Lawce HJ. (eds.) (2017) *The AGT Cytogenetics Laboratory Manual*. New Jersey: John Wiley & Sons Inc.
6. 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.
7. 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: Kuvaston numero
IVD	fi: Lääkinnälinen laite <i>in vitro</i> - diagnostiikkaan
LOT	fi: Eräkoodi
	fi: Tutustu käyttöohjeisiin
	fi: Valmistaja
	fi: Käytön eräpäivä
	fi: Lämpötilaraja
	fi: Pidettävä poissa auringonvalosta
	fi: Riittävä sisältö <n> testiin
CONT	fi: Sisältö

**Patentit ja tavaramerkit**

CytoCell on Cytozell Ltd.:n rekisteröity tavaramerkki.



**CytoCell Ltd.**

Oxford Gene Technology,  
418 Cambridge Science Park,  
Milton Road,  
Cambridge, CB4 0PZ, UK  
**Puh.:** +44 (0) 1223 294048  
**F:** +44 (0) 1223 294986  
**Sähköposti:** probes@cytozell.com  
**Verkkosivut:** www.ogt.com