



A Sysmex Group Company



Käyttöohje

VIITE: CE-LPH 007-S / CE-LPH 007

BCR/ABL (ABL1) Translocation, Dual Fusion Probe



VAIN AMMATIKÄYTTÖÖN



Lisätietoja ja muita kieliä saatavilla osoitteesta ogt.com/IFU

Käyttötarkoitus

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

Käyttöaiheet

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

Rajoitukset

Laite on suunniteltu havaitsemaan uudelleenjärjestymiä, joissa on katkoskohtia koetinsarjan punaisten ja vihreiden kloonien rajaamilla alueilla, joihin sisältyvät BCR- ja ABL1-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, kytkösdiaagnostiikkana, raskausajan tutkimuksiin, väestöpohjaiseen seulontaan, vieritestaukseen tai itsetestaukseen.

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

Se on tarkoitettu muiden diagnostiikan 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 ainoastaan ammattimaiseen laboratoriokäyttöön.

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 interfasisitumista. Tekniikassa käytetään DNA-koettimia, joiden avulla hybridisaatio koskee kokonaisia kromosomeja tai yksittäisiä, ainutkertaisia sekvenssejä ja jotka toimivat tehokkaana sytogeneettisen G-rait-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 vastavärjätään visualisointia varten. Sen jälkeen hybridisoitu koetin voidaan visualisoida fluoresenssimikroskopian avulla kohdemateriaalissa.

Koettimen tiedot

BCR (*RhoGEF:n* ja *GTPasen BCR-aktivaattori*) -geeni sijaitsee alueella 22q11.2 ja ABL1 (*ABL proto-onkogeeni 1, ei-reseptori tyrosiini-kinasi*) -geeni sijaitsee alueella

9q34.1. 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)(q34.1;q11.2) on kroonisen myelooisen leukemian (KML) tunnusmerkki, ja se on havaittavissa noin 90–95 prosentissa tapauksista¹. Muissa tapauksissa esiintyy jokin muu versio translokaatiosta tai niissä on epäselvä uudelleenjärjestymä, jossa ovat mukana 9q34.1 ja 22q11.2 ja jota ei voida tunnistaa rutiinimaisella sytogeneettisellä analyysillä¹.

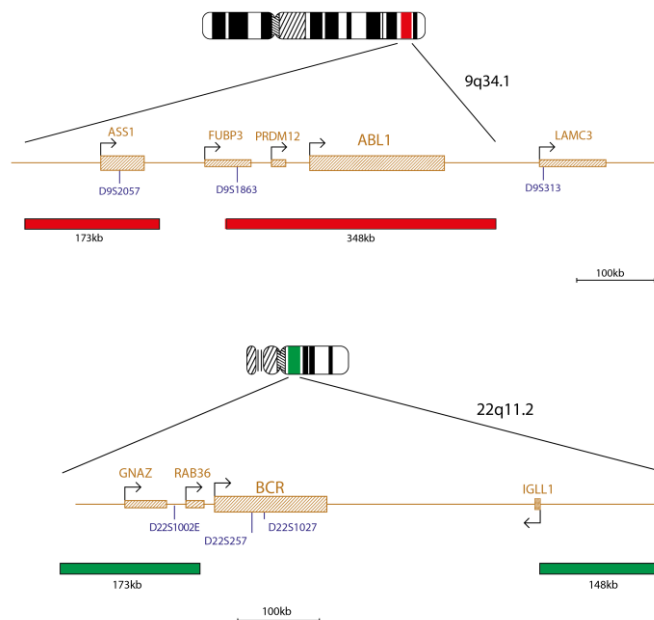
BCR::ABL1-fuusio esiintyy myös 25 prosentissa aikuisten akuutteja lymfoblastisia leukemioita (ALL) ja 2–4 prosentissa lapsuusajan ALL-leukemioita¹. BCR::ABL1-fuusion esiintymisen on todettu viittaavan huonoon ennusteeseen ALL-leukemioissa niin aikuisilla kuin lapsilla^{1,2}. Siksi poikkeavuuden havaitsemisella on suuri merkitys hoito- ja hallintapäätöksiin vaikuttavan riskiluokituksen kannalta². Pienessä määrässä ALL-tapauksia translokaatiosta ei synny sytogeneettisesti näkyvää Philadelphia-kromosomia. Näissä tapauksissa FISH on välttämätön fuusiogeenin korostamiseksi³.

Tätä uudelleenjärjestymää nähdään myös harvinaisissa akuutin myelooisen leukemian (AML) tapauksissa. Philadelphia-positiiviselle AML-leukemialle on tyypillistä sen vastustuskyky tavalliselle kemoterapialle ja huono ennuste⁴, joten tämän kromosomipoikkeavuuden tarkka ja nopea tunnistaminen on elintärkeää.

Koettimen tekniset tiedot

ABL1, 9q34.1, punainen

BCR, 22q11.2, vihreä



Punainen koetinseos sisältää 348 kb:n koettimen, joka kattaa ABL1-geenin, ja 173 kb:n koettimen, joka kattaa ASS1-geenin. Vihreä koetinseos sisältää 173 kb:n koettimen, joka on sentromeerin 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.

Toimitettavat materiaalit

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

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

Vastaväri: 150 µl pulloa kohti (15 testiä)

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

Varoitukset ja varotoimet

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

- mukaisesti ja noudattaa sen käsittelyssä ja hävittämisessä sovellettavia määräyksiä (tai varmistaa niiden noudattaminen).
- Käyttäjien on pystyttävä erottamaan toisistaan punainen, sininen ja vihreä.
 - Mikäli hahmoteltua protokollaa ei noudateta ja sen mukaisia reagensseja ei käytetä, se saattaa vaikuttaa suorituskyykyyn ja johtaa virheellisiin positiivisiin/negatiivisiin tuloksiin.
 - Koetinta ei saa laimentaa tai sekoittaa muiden koetinten kanssa.
 - Mikäli 10 µl:n koetinta ei käytetä protokollan esidenaturaatiovaiheessa, se saattaa vaikuttaa suorituskyykyyn ja johtaa virheellisiin positiivisiin/negatiivisiin tuloksiin.
 - Kaikki tuotteet on validoitava ennen käyttöä.
 - Sisäiset kontrollit on suoritettava käyttämällä muuttumattomia solupopulaatioita testinäytteissä.

Lämpötilojen tarkemmat määritelmät

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

Säilytys ja käsittely

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



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

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. Vesikyky tarkalla lämpötilan hallinnalla 37 °C:n ja 72 °C:n lämpötilassa
4. Mikrosentrifugiletkut (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 mikroskooppilinnin immersioöljy
12. Työpöytäseentrifugi
13. Mikroskooppiobjektilasi
14. 24 x 24 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

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

Loisteaine	Viritysmaks [nm]	Emissiomaks [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 kolmoiskaistanpäästösuoatinta 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 DAPI:n sekoittamista mikroskoopin immersioöljyn kanssa, sillä se hämää signaaleita. Noudata valmistajien suosituksia lampun käyttöä ja suodatinten iän suhteen.

Näytteen valmistelu

Sarja on suunniteltu käytettäväksi Carnoy'n liuosfiksatiiviin (3:1 metanoli/etikahappo) fiksoituihin, hematologisesti johdettuihin solususpensioihin, jotka on valmistettu laboratorion tai laitoksen suuntaavien mukaisesti. Valmistele ilmakuivatut näytteet mikroskoopin objektiivilaseille sytogeneettisten vakioitoimenpiteiden mukaisesti. AGT-sytogeneettikalaboratorion opaskirja sisältää suosituksia näytteen keräämisestä, viljelystä, poiminnasta ja objektiivilasiens valmistelusta⁵.

Liuoksen 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 laboratoriovaloille on aina rajallista).

Objektiivilasin valmistelu

1. Laita pisara solunäytettä mikroskooppiobjektilasille. Anna kuivua. (Valinnaista, jos käytetään sytogeneettistä kuivauskammiota: Kammiota on käytettävä noin 25 °C:n lämpötilassa ja 50 %:n kosteudessa, jotta solunäytepisara voidaan asettaa optimaalisesti lasille. Mikäli sytogeneettistä kuivauskammiota ei ole saatavilla, käytä vaihtoehtoisesti vetokaappia).
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 koetiniuos 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 solunäytteelle ja aseta peitelasi varoen paikalleen. Sulje kumiliuosliimalla ja anna liiman kuivua täysin.

Denaturaatio

10. Denaturoi näyte ja koetin samanaikaisesti kuumentamalla objektiivilasia 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 häipymistä ehkäisevää DAPIa.
- 17. Peitä peitelasilla, poista mahdolliset kuplat ja anna värin kehittyä pimeässä 10 minuuttia.
- 18. Tarkastele fluoresenssimikroskoopilla (katso **Fluoresenssimikroskooppisuositus**).

Toimenpidesuosituks

- 1. Objektiivilasi 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

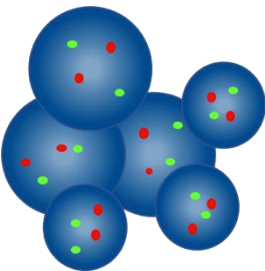
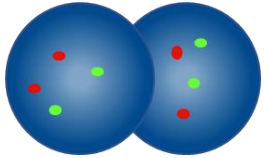
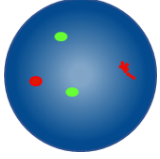
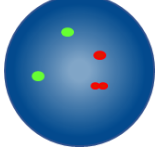
Objektiivilasin laadun arviointi

Objektiivilasia ei tarvitse analysoida, jos:

- yksittäisten suodatinten signaalit ovat liian heikkoja analysoitavaksi – jotta analyysia voidaan jatkaa, signaalien on näytävä kirkkaina, selkein 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 tuman rajoja ei voida erottaa, eivätkä ne ole eheitä.

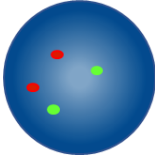
Analysointiohjeet

- Kahden analytiikan pitäisi analysoida ja tulkita jokainen näyte. Kaikki erävytykset on annettava kolmannen analytiikan arvioitavaksi.
- Jokaisella analytiikalla on oltava sopiva pätevyys tunnustettujen kansallisten standardien mukaan.
- Jokaisen analytiikan pitäisi saada riippumattomasti 100 tumaa kustakin näytteestä. Ensimmäisen analytiikan pitäisi käynnistää analyysi objektiivilasin vasemmalta puolelta ja toisen analytiikan oikealta puolelta.
- Kunkin analytiikan 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 suodatimia ja/tai säädä fokustasoa.
- Suboptimaalisissa olosuhteissa signaalit saattavat näyttää hajanaisilta. Jos kaksi samantyyppistä 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 kaksivärisiä irrotettavia koettimia signaalit on laskettava muiksi kuin uudelleenjärjestellyiksi/fuusioituneiksi, jos punaisen ja vihreän signaalin välinen rako on enintään kahden signaalileveyden kokoinen.
- Analysoitaessa kolmevärisiä irrotettavia koettimia signaalit on laskettava muiksi kuin uudelleenjärjestellyiksi/fuusioituneiksi, jos jonkin kolmesta signaalista (punainen, vihreä, sininen) välissä on enintään kahden signaalileveyden kokoinen rako.
- Mikäli on epäilystä siitä, voidaanko solu analysoida, älä analysoi sitä.

Analysointiohjeet	
	Älä laske – tumat ovat liian lähekkäin, jotta rajoja voisi määrittää
	Älä laske päällekkäisiä tumia – kummankin tuman 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 signaalileveyttä

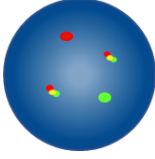
Odotettavissa olevat tulokset

Odotettavissa oleva normaali signaalikuvio



Tavallisessa solussa on odotettavissa kaksi punaista ja kaksi vihreää signaalia (2P2V).

Odotettavissa olevat epänormaalit signaalikuviot



Solussa, jossa on translokaatio t(9;22)(q34.3;q11.2), odotettavissa oleva signaalikuvio on yksi punainen, yksi vihreä ja kaksi fuusiota (1P1V2F).

Muut signaalikuviot ovat mahdollisia aneuploidisissa/epätasapainoisissa näytteissä.

Tunnetut olennaiset häiriöt / häiritsevät aineet

Ei tunnettuja olennaisia häiriöitä / häiritseviä aineita.

Tunnettu ristireaktiivisuus

Vihreä BCR-koetin voi näyttää ristihybridisaation kromosomille 7 paikassa 7q11.2.

Vakavista vaaratilanteista ilmoittaminen

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

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

Valmistajan yhteystiedot vaaratilanteissa: vigilance@ogt.com
Luettelo vaaratilanteista käsittelevien EU:n kansallisten toimivaltaisten viranomaisten yhteystiedoista on seuraavassa osoitteessa:
https://health.ec.europa.eu/medical-devices-sector/new-regulations/contacts_en

Erityiset suorituskykyominaisuudet

Analyttinen spesifisyys

Analyttinen spesifisyys on niiden signaalien prosenttiosuus, jotka hybridisoidaan oikeaan lokukseen eikä muihin sijainteihin. Neljä kromosomin lokusta jokaisessa 20 metafaasisolussa analysoidiin viidestä näytteestä, jolloin saatiin 400 tietopistettä. Jokaisen hybridisoituneen koettimen paikka kartoitettiin, ja oikeaan lokukseen hybridisoituneiden metafaasikromosomien FISH-signaalien lukumäärä kirjattiin.

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

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

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

Analyttinen herkkyys

Analyttinen herkkyys on niiden tulosten laskennassa käytettävien interfaasisolujen prosenttiosuus, joiden odotettavissa oleva signaalkuvio on normaali. Vähintään 100 interfaasisolua analysoidiin jokaisesta 25 fiksoidusta luuydinsolususpensiosta ja 25 fiksoidusta ääreisverisolususpensiosta, jotka katsottiin negatiivisiksi BCR::ABL-uudelleenjärjestymän osalta, jolloin saatiin vähintään 2500 tumaa näytetyyppiä kohden. Herkkyystiedot analysoidiin niiden solujen prosenttimäärän perusteella, jotka osoittivat normaalia odotettavissa olevaa signaalkuviota, ja tulos ilmaistiin prosenttiosuudella sekä 95 prosentin luottamusvälillä.

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

Näytteen tyyppi	Herkkyuden kriteerit	Herkkyuden tulos
Luuydin	>95 %	97,60 % (96,78–98,41 %)
Ääreisveri	>95 %	98,73 % (97,97–99,50 %)

Normaalien raja-arvojen luokittelu

Normaaliksi raja-arvoksi määritettiin niiden solujen prosenttiosuus, joissa esiintyi väärä positiivinen signaalkuvio, jolloin henkilöä pidettäisiin normaalina eikä kliinisen diagnoosin mukaisena. Vähintään 100 interfaasisolua analysoidiin jokaisesta 25 fiksoidusta luuydinsolususpensiosta ja 25 fiksoidusta ääreisverisolususpensiosta, jotka katsottiin negatiivisiksi BCR::ABL-uudelleenjärjestymän osalta, jolloin saatiin vähintään 2500 tumaa näytetyyppiä kohden.

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

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

Näytteen tyyppi	Raja-arvojen tulos
Luuydin	2,39 %
Ääreisveri	2,55 %

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

Tarkkuus

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

Tämän tuotteen tarkkuus arvioitiin kahdella (2) näytteellä: negatiivista luuydinnäytettä ja heikosti positiivista luuydinnäytettä. Heikosti positiivinen luuydinnäyte valmistettiin käyttämällä negatiivisen luuydinnäytteen osuutta ja lisäämällä siihen tunnettua positiivista luuydinnäytettä, jotta saatiin heikosti positiivista näytettä, jonka pitoisuus on 2–4x raja-arvo ja jota käytettiin koettimen haastamiseen määritetyn raja-arvon ympärille.

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

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

Muuttuja	Näytteen tyyppi	Yhtäpitävyys
Päivän sisäinen ja päivien välinen tarkkuus	Luuydin, negatiivinen	100 %
	Luuydin, heikosti positiivinen	86,7 %
Erien välisen tarkkuus	Luuydin, negatiivinen	100 %
	Luuydin, heikosti positiivinen	100 %

Kliininen suorituskyky

Sen määrittämiseksi, havaitseeko tuote aiottuja uudelleenjärjestymiä, kliininen suorituskyky määritettiin suorittamalla kaksi tutkimusta edustaville otoksille tuotteen aiotusta populaatioista: 3:1 metanoli/etikkahappofiksatiivilla fiksoidusta jäännösmateriaalista. Otannan koko oli 947 näytettä ja populaatio 84 positiivista luuydinnäytettä ja 155 positiivista ääreisverinäytettä sekä 697 negatiivista luuydinnäytettä ja 11 negatiivista ääreisverinäytettä. Tulosten yhdenmukaisuuden/ristiriitaisuuden todettiin täyttävän tutkimuksen hyväksyntäkriteerit.

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

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

Muuttuja	Tulos
Kliininen herkkyys (oikeiden positiivisten osuus, TPR)	98,93 %
Kliininen spesifisyys (oikeiden negatiivisten osuus, TNR)	99,63 %
Väärin positiivisten osuus (FPR) = 1 – spesifisyys	0,37 %

Yhteenveto turvallisuudesta ja suorituskyvystä (SSP)

SSP tulee yleisön saataville eurooppalaisen lääkinnällisten laitteiden tietokannan (Eudamed) kautta, mistä se on haettavissa Basic UDI-DI -tunnisteella. Eudamedin URL-osoite: <https://ec.europa.eu/tools/eudamed> Basic UDI-DI: 50558449LPH007JD

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

Lisätietoja

Tuotteita koskevia lisätietoja on saatavilla ottamalla yhteyttä CytoCell teknisen tuen osastoon.3-site Inter
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.*, Br J 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.

Symbolisanasto

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

Patentit ja tavaramerkit
CytoCell on CytoCell Limited -yhtiön rekisteröity tavaramerkki.



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

Puh.: +44 (0)1223 294048
F: +44 (0)1223 294986
Sähköposti: probes@cytoCell.com
Verkkosivut: www.ogt.com



Sysmex Europe SE
Bornbarch 1
22848 Norderstedt
SAKSA

Puh.: +49 40 527260
Verkkosivut: www.sysmex-europe.com

Käyttöohjeen versiohistoria
V001 2023-01-11: Uusi käyttöohje asetuksen (EU) 2017/746 vuoksi
V002 2025-08-29: UKCA-merkinnän poistaminen.