



A Sysmex Group Company



### Bruksanvisning

REF: LPH 087-S / LPH 087

## CLL Plus Screening Panel



KUN TIL BRUK AV FAGFOLK



www.cytocell.com

Du finner mer informasjon og andre språk på [www.ogt.com](http://www.ogt.com)

### Begrensninger

Dette utstyret er designet for påvisning av genomiske forsterkninger eller tap som er større enn områdene som dekkes av de røde og grønne klonene i dette probesettet, som omfatter 13q14.3-, *ATM*-, *P53 (TP53)*- og *MYB*-området samt centromeren til kromosom 12. Det er mulig at genomiske tap og forsterkninger utenfor disse områdene, eller delvis tap og forsterkninger innenfor disse områdene, ikke blir påvist med dette produktet.

Testen er ikke ment for: bruk som et frittstående diagnostiseringsmedium, prenatal testing, populasjonsbasert screening, testing i pasientnære omgivelser eller selvtesting. Dette produktet er ment for profesjonell bruk i laboratorier; alle resultater skal tolkes av kvalifisert personell som tar andre relevante testresultater med i betraktningen.

Dette produktet er ikke godkjent for bruk til andre typer prøver eller sykdommer enn det som er spesifisert under Bruksområder.

Rapportering og tolking av FISH-resultater skal være i samsvar med standarder for profesjonell praksis, og annen klinisk og diagnostisk informasjon skal tas i betraktning. Dette settet er ment som et supplement til andre diagnostiske laboratorietester, og behandling skal ikke igangsettes kun på bakgrunn av FISH-resultatet.

Dersom protokollen ikke følges, kan det påvirke testen og føre til falskt positivt / negativt resultat.

Dette settet er ikke godkjent for andre formål enn det som er angitt under Bruksområder:

### Bruksområder

CLL Plus Screening Panel er en kvalitativ, ikke-automatisert FISH-test (fluorescens *in situ* hybridisering) som brukes for påvisning av delesjoner i 11q22.3-området på kromosom 11, 17p13.1-området på kromosom 17 eller 13q14.2-q14.3-området på kromosom 13 og/eller forsterkninger i centromerområdet på kromosom 12, som involverer *MYB*-området på kromosom 6 på lokasjon 6q23.3, hos pasienter med kronisk lymfatisk leukemi (KLL). Det benyttes suspensjoner av fikserte, hematologisk deriverte celler i Carnoys oppløsning (3:1 metanol/eddiksyre).

### Indikasjoner

Dette produktet er designet for bruk i tillegg til andre kliniske og histopatologiske tester som foretas under godkjent diagnostisk og klinisk behandling, der kunnskap om eventuell *P53 (TP53)*, *ATM*-delesjon eller *D13S319*-delesjon og/eller -forsterkning på kromosom 12, vil være viktig for den kliniske behandlingen.

### Prinsippene bak testen

Fluorescens *in situ* hybridisering (FISH) er en teknikk som gjør det mulig å påvise DNA-sekvenser på kromosomer i metafase eller kjerner i interfase ved hjelp av fikserte cytogenetiske prøver. Teknikken innebærer bruk av DNA-prober som hybridiserer hele kromosomer eller unike sekvenser, og er effektiv som supplement til cytogenetisk G-båndsanalyse. Denne teknikken kan nå brukes som et viktig verktøy for analysing av prenatale og hematologiske kromosomer og kromosomer i solide tumorer. Etter fiksering og denaturering er mål-DNA tilgjengelig for sammenkobling med en fluorescens-merket DNA-probe som er denaturert på lignende måte og som har en komplementær sekvens. Etter hybridisering blir ubundet og ikke spesifikt bundet DNA-probe fjernet, og DNAet blir kontrafarget for visualisering. Fluorescensmikroskopi gjør det da mulig å visualisere den hybridiserte proben på målmaterialet.

### Probeinformasjon

Et utvalg av hematologiprober og en Alpha Satellite Probe for kronisk lymfatisk leukemi (KLL).

### Alpha Satellite 12 Plus for CLL

Trisomi 12 er et tilbakevendende avvik ved KLL som ses i 20 % av tilfellene<sup>1</sup> og ofte forekommer som det eneste cytogenetiske avviket (40–60 % av tilfellene av trisomi 12)<sup>2</sup>. Pasienter med trisomi 12 er klassifisert med lav risiko dersom de ikke har andre genetiske lesjoner<sup>3</sup>. Dette produktet er også tilgjengelig i sett med 5 (LPH 069-S) og 10 (LPH 069) tester og er optimalisert for hybridisering over natten.

### 13q14.3

Delesjoner som påvirker 13q14, er de vanligste strukturelle genetiske avvikene ved KLL<sup>3,4,5</sup>. Dette området viste seg å være heterozygotisk deletert hos 30–60 % og homozygotisk deletert hos 10–20 % av KLL-pasienter<sup>6</sup>. Pasienter med 13q14-delesjoner er klassifisert med svært lav risiko dersom de ikke har andre genetiske lesjoner<sup>3</sup>.

### P53 (TP53) (17p13.1)

TP53-genet (genet for *tumorprotein p53*) på 17p13.1 er ett av de viktigste tumorsuppressorgenene. Det virker som en potent transkripsjonsfaktor som spiller en fundamental rolle for opprettholdelse av genetisk stabilitet. TP53-tap er rapportert hos 10 % av pasientene med KLL og betraktes som markøren for dårligst prognose<sup>3,7</sup>.

### ATM (11q22.3)

ATM-genet (genet for *ATM serin/treoninkinase*) på 11q22.3 er et viktig kontrollgen som er involvert i reparasjon av celledskade. Det har som funksjon å måle nivået av DNA-skade i cellen og å forsøke å reparere skaden ved fosforilyering av nøkkelsubstrater som er involvert i den signalveien som er en respons på DNA-skade<sup>8</sup>. ATM-tap er rapportert hos 18 % av pasientene med KLL og betraktes som en markør for dårlig prognose<sup>9</sup>.

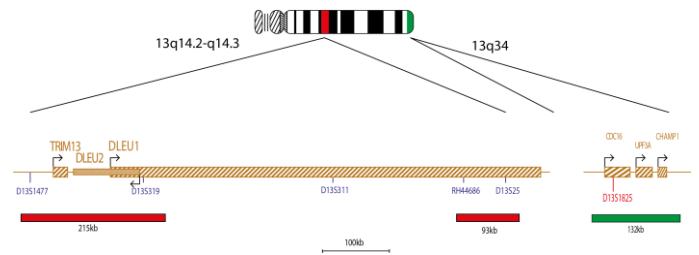
### MYB (6q23.3)

Delesjoner på kromosom 6q er tilbakevendende ved KLL. MYB-genet (genet for *MYB proto-onkogen, transkripsjonsfaktor*) er helt nødvendig for hematopoietisk celleproliferasjon og -differensiering<sup>10,11</sup>. Det er lokalisert på bånd 6q23.3 og er en markør for 6q-delesjon.

### Probespesifikasjon

#### 13q14.3 Deletion Probe

13q14.2-q14.3, Rød  
 13qter, 13q34, Grønn

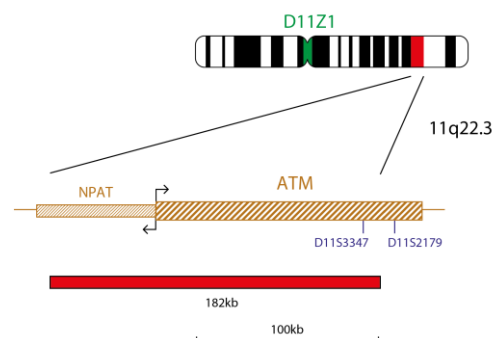


13q14.2-q14.3-probene er rødmærkede og dekker *D13S319*- og *D13S25*-markørene. Den 13qter-subtelomer-spesifikke proben (klone 163C9) er grønmærket og gjør det mulig å identifisere kromosom 13 og fungerer som en kontrollprobe.

#### ATM Deletion Probe

ATM, 11q22.3, Rød  
 D11Z1, 11p11.1-q11.1, Grønn

CMP-H006 v005.00



ATM-proben er 182 kb, rødmærket og dekker telomerenden til NPAT-genet og centromerenden til ATM-genet rett nedenfor *D11S3347*-markøren. Probeblandingen inneholder også en grønmærket kontrollprobe for 11-centromeren (*D11Z1*).

**Alpha Satellite 12 Plus for CLL**  
D12Z3, 12p11.1-q11.1, Rød

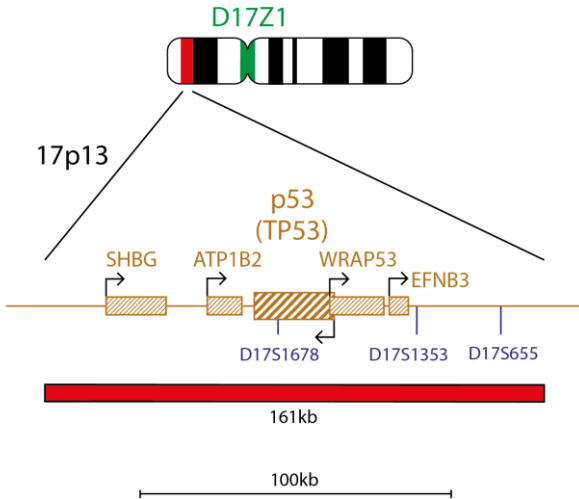


Alpha-Satellite 12 Plus Probe er en probe for repeterte sekvenser som er rødmærket og gjengjenner den centromeriske repeterte sekvensen D12Z3.

#### **P53 (TP53) Deletion Probe**

P53, 17p13, Rød  
D17Z1, 17p11.1-q11.1, Grønn

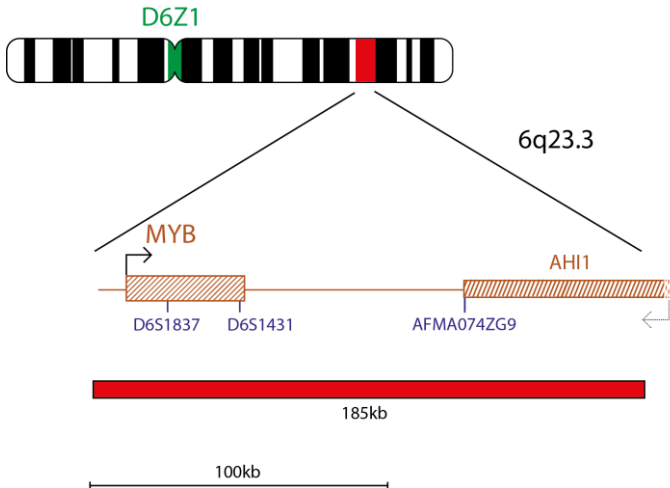
CMP-H039 V007.00



p53 (TP53)-proben er en 161 kb probe som er rødmærket og dekker hele p53-genet (TP53) og de flankerende områdene. Probeblandingene inneholder også en grønnmerket kontrollprobe for 17-centromeren (D17Z1).

#### **MYB Deletion Probe**

MYB, 6q23.3, Rød  
D6Z1, 6p11.1-q11.1, Grønn



MYB-probeblandingene består av en 185 kb probe som er rødmærket og dekker hele MYB-genet og et område telomert til genet, som omfatter en centromer del av AHI1-genet. Denne probeblandingene inneholder også en grønnmerket kontrollprobe for 6-centromeren (D6Z1).

#### **Nødvendig materiell**

**Prober:** 50 µl per ampulle (5 tester) eller 100 µl per ampulle (10 tester)  
Probene leveres forhåndsbladet i hybridiseringsløsning (formamid; dekstranulfat; natriumklorid/natriumsitrat-oppløsning (SSC)) og er klare til bruk.

#### **Kontrafarging:** 150 µl per ampulle (15 tester)


Kontrafargen er DAPI antifade (ES: 0,125 µg/ml DAPI (4,6-diamidino-2-fenylindol)).


#### **Advarsler og forsiktighetsregler**

1. Til *in vitro* diagnostisk bruk. Kun til profesjonell bruk.
2. Bruk hansker ved håndtering av DNA-prober og DAPI-kontrafarge.

3. Probeblandingene inneholder formamid, som er teratogent; unngå hudkontakt og innånding av damp. Utvis forsiktighet ved håndtering; bruk hansker og labfrakk.
4. DAPI er et potensielt karsinogen. Utvis forsiktighet ved håndtering; bruk hansker og labfrakk.
5. Alt farlig materiale skal kasseres i samsvar med din institusjons retningslinjer for kassering av farlig avfall.
6. Brukerne må være i stand til å skille mellom fargene rød, blå og grønn
7. Dersom de angitte protokollene og reagensene ikke benyttes, kan det påvirke testen og føre til falskt positivt/negativt resultat.
8. Proben skal ikke fortynnes eller blandes med andre prober.
9. Dersom det ikke brukes 10µl probe under protokolltrinnet med pre-denaturering, kan det påvirke testen og føre til falskt positivt/negativt resultat.

#### **Oppbevaring og håndtering**

 Settett skal oppbevares mellom -25 °C og -15 °C i en fryser og kan oppbevares inntil utløpsdatoen som er oppgitt på settets etikett. Ampullene med probe og kontrafarge må oppbevares mørkt.

 Ved normal bruk er proben stabil gjennom fryse/tine-syklusene (der én syklus omfatter å ta proben ut av fryseren og sette den inn i igjen), og den er lysstabil i opptil 48 timer etter å ha vært utsatt for kontinuerlig belysning. Eksponering for lys og temperaturforandringer må begrenses i størst mulig grad.

#### **Nødvendig utstyr og materiell som ikke medfølger**

Det må benyttes kalibrert utstyr:

1. Varmepate (med fast plate og nøyaktig temperaturkontroll opptil 80 °C)
2. Kalibrerte mikropipetter med forskjellige tupper og for forskjellige volum i området 1–200 µl
3. Vannbad med nøyaktig temperaturkontroll ved 37 °C og 72 °C
4. Mikrosentrifugerør (0,5 ml)
5. Fluorescensmikroskop (se avsnittet Anbefalinger for fluorescensmikroskopering)
6. Fasekonstrastmikroskop
7. Rene Coplin-krukker av plast, keramikk eller varmeresistent glass
8. Pinsett
9. Kalibrert pH-måler (eller strips med pH-indikator som måler pH 6,5–8,0)
10. Fuktekammer
11. Immersjonsolje for fluorescensmikroskopering
12. Benksentrifuge
13. Objektglass for mikroskop
14. 24x24 mm dekkglass
15. Tidtaker
16. 37 °C inkubator
17. Lim (gummioppløsning)
18. Vortex-blander
19. Graderte sylinderglass
20. Magnetrører
21. Kalibrert termometer

#### **Valgfritt utstyr som ikke medfølger**

1. Cytogenetisk tørkekammer

#### **Nødvendige reagenser som ikke medfølger**

1. 20x natriumklorid/natriumsitrat-oppløsning (SSC)
2. 100 % etanol
3. Tween-20
4. 1M natriumhydroksid (NaOH)
5. 1M saltsyre (HCl)
6. Renset vann

#### **Anbefalinger ved fluorescensmikroskopering**

Bruk en 100-watts kvikksølvlampe eller tilsvarende og planslipte, apokromatiske objektglass 60/63x eller 100x for oljeimmersjon og optisk visualisering. Fluoroforene som benyttes i dette probesettet, eksiterer og emitterer ved følgende bølglengder:

Fluorofor	Eksitasjon <sub>max</sub> [nm]	Emisjon <sub>max</sub> [nm]
Grønt	495	521
Rødt	596	615

Sørg for at mikroskopet har egnede eksitasjons- og emisjonsfiltre som dekker bølglengdespekteret som er angitt ovenfor. Bruk et trippelt bandpassfilter (DAPI / grønt spektrum / rødt spektrum) eller et dobbelt bandpassfilter (grønt spektrum / rødt spektrum) for optimal simultan visualisering av de grønne og røde fluoroforene.

Sjekk at fluorescensmikroskopet fungerer som det skal før det brukes. Bruk immersjonsolje som er egnet for fluorescensmikroskopering og som er formulert for lav autofluorescens. Unngå å blande DAPI antifade i immersjonsoljen. Det gjør signalene utydelige. Følg produsentens anbefalinger når det gjelder lampens og filternes levetid.

#### **Prøvepreparering**

Settett er designet for hematologisk deriverte cellesuspensjoner som er fiksert i Carnoys oppløsning (3:1 metanol/eddiksyre), som er fremstilt i henhold til laboratoriets eller institusjonens retningslinjer. Preparer lufttørkede prøver på objektglass i henhold til standard cytogenetiske prosedyrer. AGT *Cytogenetics*

Laboratory Manual inneholder anbefalinger for prøvetaking, dyrking, høsting og prøvepreparering<sup>12</sup>.

### Tilberedning av oppløsninger

#### Etanoloppløsninger

Fortynn 100 % etanol med rensert vann i følgende forhold, og bland godt:

- 70 % etanol – 7 deler 100 % etanol og 3 deler rensert vann
- 85 % etanol – 8,5 deler 100 % etanol og 1,5 deler rensert vann

Oppløsningene kan oppbevares i opptil 6 måneder ved romtemperatur i en lufttett beholder.

#### 2xSSC-oppløsning

Fortynn 1 del 20xSSC-oppløsning med 9 deler rensert vann, og bland godt. Sjekk pH, og juster til pH 7,0 ved bruk av NaOH eller HCl etter behov. Oppløsningen kan oppbevares i opptil 4 uker ved romtemperatur i en lufttett beholder.

#### 0,4xSSC-oppløsning

Fortynn 1 del 20xSSC-oppløsning med 49 deler rensert vann, og bland godt. Sjekk pH, og juster til pH 7,0 ved bruk av NaOH eller HCl etter behov. Oppløsningen kan oppbevares i opptil 4 uker ved romtemperatur i en lufttett beholder.

#### 2xSSC, 0,05 % Tween-20-oppløsning

Fortynn 1 del 20xSSC-oppløsning med 9 deler rensert vann. Tilsatt 5 µl Tween-20 per 10 ml, og bland godt. Sjekk pH, og juster til pH 7,0 ved bruk av NaOH eller HCl etter behov. Oppløsningen kan oppbevares i opptil 4 uker ved romtemperatur i en lufttett beholder.

#### FISH-protokoll

(Obs! Pass alltid på at proben og kontrafargen eksponeres minst mulig for laboratoriebelysning).

#### Prøvepreparering

1. Legg celleprøven på et objektglass av glass. La lufttørke. (**Valgfritt, dersom det benyttes et cytogenetisk tørkekammer:** prøvene skal legges på objektglassene i et cytogenetisk tørkekammer. For optimal prøvepreparering skal kammeret holde omtrent 25 °C og 50 % fuktighet. Dersom et cytogenetisk tørkekammer ikke er tilgjengelig, kan en avtrekkshette være et alternativ).
2. Legg objektglasset i 2xSSC i 2 minutter ved romtemperatur uten omrøring.
3. Dehydrer i flere etanoloppløsninger (70 %, 85 % og 100 %) ved romtemperatur. 2 minutter i hver oppløsning.
4. La lufttørke.

#### Pre-denaturering

5. Ta proben ut av fryseren, og la den nå romtemperatur. Sentrifuger rørene lett før bruk.
6. Bland probeløsningen med en pipette så den blir homogen.
7. Ta ut 10 µl probe per test, og overfør volumet til et mikrosentrifugerør. Sett straks resterende probe tilbake i fryseren.
8. Forhåndsvarm proben og prøvepreparatet til 37 °C (+/- 1 °C) på en varmeplate i 5 minutter.
9. Legg 10 µl probeblanding på celleprøven, og legg et dekkglass forsiktig på. Forsegel med lim (gummioppløsning), og la limet tørke helt.

#### Denaturering

10. Denaturer prøven og proben samtidig ved å varme objektglasset på en varmeplate ved 75 °C (+/- 1 °C) i 2 minutter.

#### Hybridisering

11. Oppbevar objektglasset i en fuktig, lystett beholder ved 37 °C (+/- 1 °C) over natten.

#### Vasking etter hybridisering

12. Ta DAPI ut fra fryseren, og la den nå romtemperatur.
13. Fjern forsiktig dekkglasset og alle limrester.
14. Legg objektglasset i 0,4xSSC (pH 7,0) ved 72 °C (+/- 1 °C) i 2 minutter uten omrøring.
15. La oppløsningen renne av, og legg objektglasset i 2xSSC, 0,05 % Tween-20 ved RT (pH 7,0) i 30 sekunder uten omrøring.
16. La oppløsningen renne av, og legg 10 µl DAPI antifade på hver prøve.
17. Legg på et dekkglass, fjern eventuelle bobler og la fargen utvikles i mørke i 10 minutter.
18. Se på prøven i et fluorescensmikroskop (Se **Anbefalinger ved fluorescensmikroskopering.**)

#### Stabiliteten til ferdigpreparerte prøver

Ferdige prøvepreparater kan analyseres i opptil 1 måned dersom de oppbevares i mørke ved romtemperatur eller lavere.

#### Prosedyreanbefalinger

1. Uttørkede eller gamle prøver kan gi redusert signalflorescens
2. Hybridiseringsbetingelsene kan bli negativt påvirket dersom det brukes andre reagenser enn det som følger med eller anbefales av Cytocell Ltd
3. Bruk et kalibrert termometer til måling av temperaturen i oppløsninger, vannbad og inkubatorer siden disse temperaturene er viktige for optimal ytelse.
4. Konsentrasjoner, pH-verdier og temperaturer er viktige siden lav stringens kan føre til uspesifikk binding av proben og for høy stringens kan føre til manglende signal
5. Ufullstendig denaturering kan føre til manglende signal og overdenaturering kan også føre til uspesifikk binding
6. Overhybridisering kan føre til ekstrasingler eller uventede signaler
7. Brukerne bør optimalisere protokollen for egne prøver før de bruker testen til diagnostiske formål

8. Suboptimale forhold kan føre til uspesifikk binding som kan bli feiltolket som et probesignal

### Tolking av resultater

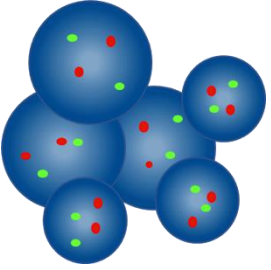
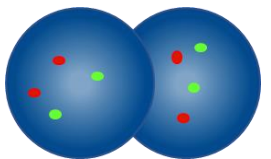
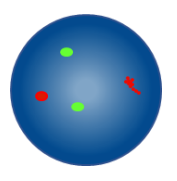
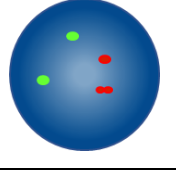
#### Vurdering av prøvepreparatets kvalitet

Prøvepreparatet skal ikke analyseres dersom:

- Signalene er for svake for analysering i enkle filtre. For å kunne brukes i analyse skal signalene være klare, distinkte og enkle å evaluere
- Det er mange sammenklumpede/overlappende celler som forstyrrer analysen
- >50 % av cellene ikke er hybridisert
- Det er et overskudd av fluorescerende partikler mellom celler og/eller en fluorescerende tåke som interfererer med signalene – på optimale prøvepreparater er bakgrunnen jevn og mørk eller svart
- Grensen til cellekjernen ikke kan skjelles eller ikke er intakt

#### Retningslinjer for analyse

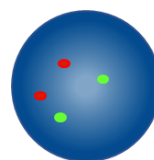
- To analytikere skal analysere og tolke hver prøve. Ved eventuell uoverensstemmelse skal det foretas en vurdering av en tredje analytiker
- Alle analytikere skal være tilstrekkelig kvalifisert i henhold til anerkjente nasjonale standarder.
- Hver analytiker skal uavhengig av hverandre gi score til 100 kjerner i hver prøve. Første analytiker bør starte analysen fra venstre side av prøven og andre analytiker fra høyre side.
- Begge analytikere skal dokumentere resultatene sine i separate dokumenter
- De skal bare analysere intakte kjerner og ikke overlappende eller sammenklumpede kjerner eller kjerner som er dekket av cytoplasmarester eller som har høy grad av autoflorescens
- Unngå områder med mye cytoplasmarester eller uspesifikk hybridisering
- Signalintensiteten kan variere, også innenfor en enkelt kerne. I slike tilfeller skal det brukes enkeltfiltre og/eller det fokale planet skal justeres
- Ved suboptimale forhold kan signalene bli diffuse. Dersom to signaler med samme farge er i kontakt med hverandre, eller avstanden mellom dem ikke er større enn to signalbredder, eller når en svak tråd sammenkobler de to signalene, skal det regnes som ett signal
- Ved tvil om hvorvidt en celle er analyserbar eller ikke, skal den ikke analyseres

Retningslinjer for analyse	
	Skal ikke telles – kjernene er for nære hverandre til at grensene kan bestemmes
	Overlappende kjerner skal ikke telles – alle områder av begge kjerner er ikke synlige
	Telles som to røde signaler og to grønne signaler – ett av de to røde signalene er diffuse
	Telles som to røde signaler og to grønne signaler – mellomrommet i ett rødt signal er mindre enn to signalbredder

#### Forventede resultater

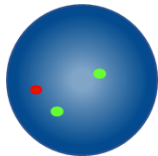
##### 13q14.3 Deletion Probe

##### Forventet mønster av normale signaler

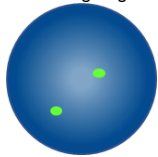


I en normal celle forventes to røde og to grønne signaler (2R, 2G).

#### Forventet mønster av unormale signaler



I en celle med en hemizygot delesjon av 13q14.3 er det forventede signalmønsteret ett rødt og to grønne signaler (1R, 2G).



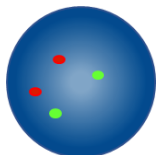
I en celle med en homozygot delesjon er det forventede signalmønsteret null røde og to grønne signaler (0R, 2G).

13q-delesjoner i forbindelse med KLL blir registrert som heterogene; en liten delesjon i 13q-området kan føre til et lite restsignal med dette probesettet.

Andre signalmønstre er mulige i aneuploide/ubalanserte celleprøver.

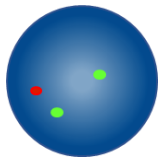
#### **ATM Deletion Probe**

##### Forventet mønster av normale signaler



I en normal celle forventes to røde og to grønne signaler (2R, 2G).

##### Forventet mønster av unormale signaler

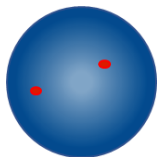


I en celle med en ATM-delesjon er det forventede signalmønsteret ett rødt og to grønne signaler (1R, 2G).

Andre signalmønstre er mulige i aneuploide/ubalanserte celleprøver.

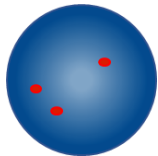
#### **Alpha Satellite 12 Plus for CLL**

##### Forventet mønster av normale signaler



I en normal celle forventes to røde signaler (2R).

##### Forventet mønster av unormale signaler

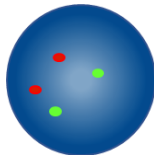


I en celle med trisomi 12 er det forventede signalmønsteret tre røde signaler (3R).

Andre signalmønstre er mulige i aneuploide/ubalanserte celleprøver.

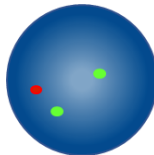
#### **P53 (TP53) Deletion Probe**

##### Forventet mønster av normale signaler



I en normal celle forventes to røde og to grønne signaler (2R, 2G).

##### Forventet mønster av unormale signaler

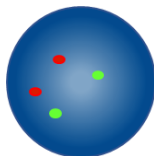


I en celle med en P53-delesjon er det forventede signalmønsteret ett rødt og to grønne signaler (1R, 2G).

Andre signalmønstre er mulige i aneuploide/ubalanserte celleprøver.

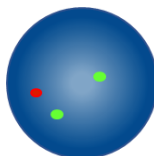
#### **MYB Deletion Probe**

##### Forventet mønster av normale signaler



I en normal celle forventes to røde og to grønne signaler (2R, 2G).

##### Forventet mønster av unormale signaler



I en celle med en MYB-delesjon er det forventede signalmønsteret ett rødt og to grønne signaler (1R, 2G).

Andre signalmønstre er mulige i aneuploide/ubalanserte celleprøver.

#### **Kjente kryssreaksjoner**

Probe	Kjente kryssreaksjoner
13q14.3 Deletion Probe	Den grønne 13qter-proben kan vise krysshybridisering til centromeren til kromosom 19 og p-armene til andre kromosomer.
ATM Deletion Probe	Den grønne D11Z1-proben kan vise opptil 4 krysshybridiseringssignaler til Xc og 17c.
Alpha Satellite 12 Plus for CLL	Proben kan vise rød krysshybridisering til 3c, 6c, 7c og 10c.
P53 Deletion Probe	Den grønne D17Z1-proben kan vise krysshybridisering til centromerene til kromosom 11 og X.
MYB Deletion Probe	Ingen kjente kryssreaksjoner

#### **Melding av bivirkninger**

Dersom du mener at dette utstyret har en feilfunksjon eller svekket ytelse som kan ha bidratt til en bivirkning (f.eks. forsinket eller feil diagnose, forsinket eller uhensiktsmessig behandling), må dette rapporteres umiddelbart til produsenten (**e-post**: [vigilance@ogt.com](mailto:vigilance@ogt.com)).

Bivirkningen skal om mulig også rapporteres til de ansvarlige myndigheter i ditt land. Det finnes en liste over kontaktpunkter på: <http://ec.europa.eu/growth/sectors/medical-devices/contacts/>.

#### **Spesifikke analysekarakteristika**

##### **Analytisk spesifisitet**

Analytisk spesifisitet er prosentandelen signaler som viser hybridisering til korrekt locus og ingen annen lokasjon. Den analytiske spesifisiteten ble bestemt ved analysering av totalt 200 mål-loci. Den analytiske spesifisiteten ble beregnet som antall FISH-signaler som hybridiserte til korrekt locus, dividert med totalt antall hybridiserte FISH-signaler.



Tabell 1. Analytisk spesifisitet for CLL *Plus* Screening Panel

Sett	Probe	Mål-locus	Antall signaler hybridisert til korrekt locus	Totalt antall hybridiserte signaler	Spesifisitet (%)
13q14.3 Deletion Probe	Rødt 13q14.3	13q14.3	200	200	100
	Grønt 13qter	13qter, 13q34	200	200	100
ATM Deletion Probe	Rødt ATM	11q22.3	200	200	100
	Grønt D11Z1	11q11.1-q11.1	200	200	100
Alpha Satellite 12 <i>Plus</i> for CLL	D12Z3 Rød	12p11.1-q11.1	200	200	100
P53 Deletion Probe	Rødt P53	17p13.1	200	200	100
	Grønt D17Z1	17p11.1-q11.1	200	200	100
MYB Deletion Probe	Rødt MYB	6q23	200	200	100
	Grønt D6Z1	6p11.1-q11.1	200	200	100

**Analytisk sensitivitet**

Analytisk sensitivitet er prosentandelen interfase-celler som kan gis en score og som har det forventede mønsteret av normale signaler. Analytisk sensitivitet ble bestemt ved analysing av interfase-celler på tvers av forskjellige normale prøver. Sensitiviteten ble beregnet som prosentandelen celler som kan gis en score, og som har det forventede signalmønsteret (med 95 % konfidensintervall).

Tabell 2. Analytisk sensitivitet for CLL *Plus* Screening Panel

Sett	Antall celler med forventede signalmønstre	Antall celler med signaler som kan gis en score	Sensitivitet (%)	95 % konfidensintervall
13q14.3 Deletion Probe	481	500	96,2	1,6
ATM Deletion Probe	482	500	96,4	1,0
Alpha Satellite 12 <i>Plus</i> for CLL	487	500	97,4	1,0
P53 Deletion Probe	471	500	94,2	2,7
MYB Deletion Probe	479	500	95,8	1,7

**Karakterisering av normale cut-off-verdier**

I forbindelse med FISH-prober er den normale cut-off-verdien den maksimale prosentandelen interfase-celler som kan gis en score og som har et spesifikt mønster av unormale signaler, der en prøve betraktes som normal for det signalmønsteret.

Den normale cut-off-verdien ble bestemt ved bruk av prøver fra normale og positive pasienter. For hver prøve ble signalmønsteret til 100 celler registrert. Youden-indeksen ble beregnet for å finne terskelverdien der Sensitivitet + Spesifisitet-1 er maksimalt.

Tabell 3. Karakterisering av normale cut-off-verdier for CLL *Plus* Screening Panel

Sett	Unormalt signalmønster	Youden-indeks	Normal cut-off (%)
13q14.3 Deletion Probe	1R, 2G eller 0R, 2G	0,95	7
ATM Deletion Probe	1R, 2G	0,99	9
Alpha Satellite 12 <i>Plus</i> for CLL	3R	0,99	3
P53 Deletion Probe	1R, 2G	0,90	10
MYB Deletion Probe	1R, 2G	0,97	8

Laboratorier må verifisere cut-off-verdier ved bruk av egne data<sup>13, 14</sup>.

**Nøyaktighet og reproduserbarhet**

Nøyaktighet er et mål på den naturlige variasjonen for en test som blir gjentatt flere ganger under de samme forholdene. Nøyaktigheten ble vurdert ved bruk av prøver med prober fra med samme lot-nummer som ble testet på samme prøve, under de samme forholdene og på samme dato.

Reproduserbarhet er et mål på variabiliteten til en test og er bestemt med hensyn til variabilitet fra prøve til prøve, dag til dag og batch til batch. Reproduserbarhet dag-til-dag ble bestemt ved analysing av de samme prøvene på tre forskjellige dager. Reproduserbarhet batch-til-batch ble bestemt ved analysing av de samme prøvene på én dag, men ved bruk av probe med tre forskjellige lot-numre. Reproduserbarhet prøve-til-prøve ble bestemt ved analysing av tre replikater av en prøve på én dag. For hver prøve ble signalmønstre for 100 interfase-celler registrert, og prosentandelen celler med forventet signalmønster ble beregnet.

Reproduserbarhet og nøyaktighet ble beregnet som standardavviket (STDEV) mellom replikater for hver variabel og totalt gjennomsnittlig STDEV.

Tabell 4. Reproduserbarhet og nøyaktighet for CLL *Plus* Screening Panel

Variabel	Standardavvik (STDEV)				
	13q14.3 Deletion Probe	ATM Deletion Probe	Alpha Satellite 12 <i>Plus</i> for CLL	P53 Deletion Probe	MYB Deletion Probe
Nøyaktighet	0,72	0,38	0,72	2,63	1,09
Prøve-til-prøve	0,58	0,38	0,89	2,30	1,19
Dag-til-dag	0,96	0,58	0,51	2,39	1,20
Batch-til-batch	1,40	1,27	1,27	1,68	0,90
Totalt avvik	1,03	1,01	1,15	2,16	1,06

**Klinisk ytelse**

Den kliniske ytelsen ble bestemt for et representativt utvalg fra populasjonen som produktet er tiltenkt for. For hver prøve ble signalmønsteret til  $\geq 100$  interfase-celler registrert. Det ble avgjort om signaler var normale/unormale ved å sammenligne prosentandelen av celler med det spesifikke mønsteret av unormale signaler, med cut-off-verdien for normal. Resultatene ble deretter sammenlignet med prøvens kjente status.

Resultatene for de kliniske dataene ble analysert for å generere verdier for sensitivitet, spesifisitet og cut-off ved bruk av en endimensjonal tilnærming.

Tabell 5. Klinisk ytelse for CLL *Plus* Screening Panel

Probe	Klinisk sensitivitet (sann positiv rate, TPR)	Klinisk spesifisitet (sann negativ rate, TNR)	Falsk positiv rate (FPR) = 1 - Spesifisitet
13q14.3 Deletion Probe	96,3 %	99,1%	0,9%
ATM Deletion Probe	100%	99,2%	0,8%
Alpha Satellite 12 <i>Plus</i> for CLL	100%	100%	0%
P53 Deletion Probe	92,5%	97,1%	2,9%
MYB Deletion Probe	97,8%	99,6%	0,4%

**Ytterligere informasjon**

Ytterligere produktinformasjon kan fås ved å kontakte CytoCell Technical Support Department.

Tlf.: +44 (0)1223 294048










E: techsupport@cytoCELL.com

W: www.ogt.com

**Referanser**

1. Swerdlow *et al.*, (eds.) WHO Classification of Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissue, Lyon, France, 4th edition, IARC, 2017
2. Puiggros *et al.*, Biomed Res Int 2014;1:1-13
3. Rossi *et al.*, Blood 2013;121(8):1403-1412
4. Juliusson G *et al.*, N Eng J Med 1990;323:720-4
5. Kasar *et al.*, Nature Communications 2015;6:1-12
6. Hammarsund M *et al.*, FEBS Letters 2004;556:75-80
7. Baliakas P, *et al.*, Leukemia. 2014;(April):1-8
8. Stankovic *et al.*, Blood 2004;103(1):291-300
9. Dohner *et al.*, N Eng J Med 2000;343:1910-1916
10. Clappier *et al.*, Blood 2007;110(4):1251-1261
11. Stilgenbauer *et al.*, Leukemia, 1999;13:1331-1334
12. Arsham, MS., Barch, MJ. and Lawce HJ. (eds.) (2017) The *AGT Cytogenetics Laboratory Manual*. New Jersey: John Wiley & Sons Inc.
13. 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.
14. 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.

**Forklaring av symboler**

REF	no: Katalognummer
	no: <i>In vitro</i> -diagnostisk medisinsk utstyr
	no: Batchkode
	no: Les bruksanvisningen
	no: Tilvirker
	no: Brukes innen-dato
	no: Temperaturgrense
	no: Oppbevares beskyttet mot sollys
	no: Innholdet rekker til <n> tester
	no: Innhold

**Patenter og varemerker**

CytoCell er et registrert varemerke for CytoCell Ltd.



**Cytocell Ltd.**  
Oxford Gene Technology,  
418 Cambridge Science Park,  
Milton Road,  
Cambridge, CB4 0PZ, Storbritannia  
Tlf.: +44(0)1223 294048  
Faks: +44(0)1223 294986  
E-post: probes@cytoCell.com  
Nettside: www.ogt.com