



A Sysmex Group Company



### Käyttöohje

REF: LPH 026-S / LPH 026

## AML1/ETO (RUNX1/RUNX1T1) Translocation, Dual Fusion Probe -koetin



VAIN AMMATTIKÄYTTÖÖN



www.cytocell.com

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

### Rajoitukset

Laitte on suunniteltu havaitsemaan uudelleenjärjestyksiä, joissa on katkoskohtia koetinrjan punaisten ja vihreiden kloonien kattamilla alueilla, joihin sisältyvät *AML1*- ja *ETO* (*RUNX1* ja *RUNX1T1*) -alueet. Tämä tuote ei ehkä havaitse kysessä alueen ulkopuolisia katkoskohtia tai vaihtoehtoisia uudelleenjärjestyksiä, 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 tautityypin kohdalla, joita ei ole määritetty aiotussa käyttötarkoituksessa.

FISH-tulosten raportoinnin ja tulkinan on oltava yhdenmukainen ammattimaisten käytäntöstandardien kanssa, ja niissä on otettava huomioon muut kliiniset ja diagnostiset tiedot. Sarja on tarkoitettu muiden diagnostisten laboratoriotesien 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 AML1/ETO (RUNX1/RUNX1T1) Translocation, Dual Fusion Probe -koetin on kvalitatiivinen, ei-automatisoitu FISH (fluorescence *in situ* hybridisation) -testi, jota käytetään kromosomien uudelleenjärjestyksien havaitsemiseen kromosomin 21 alueen 21q22.1 jakrosomin 8 alueen 8q21.3 välillä Camoyin liuokseen (3:1 metanoli/etikahappo) fiksatoituille hematologisesti johdetuille solususpensioille potilailta, joilla on vahvistettu tai epäilty akuutti myeloinen leukemia (AML).

### Käyttöaiheet

Tämä tuote on suunniteltu käytettäväksi muiden kliinisten ja histopatologisten testien lisäksi vakiintuneissa diagnostiikan ja kliinisen hoidon hoitopoluissa, joissa *AML1-ETO* (*RUNX1/ RUNX1T1*) -translokaation tilan tunteminen olisi tärkeää kliiniselle hoidolle.

### Testin periaatteet

Fluoresenssi *in situ* -hybridisaatio (FISH) on tekniikka, jonka avulla DNA-sekvenssejä voidaan havaita metafasisikromosomeista 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 tumorien kromosomianalyysiin. Kohde-DNA on fiksaation 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

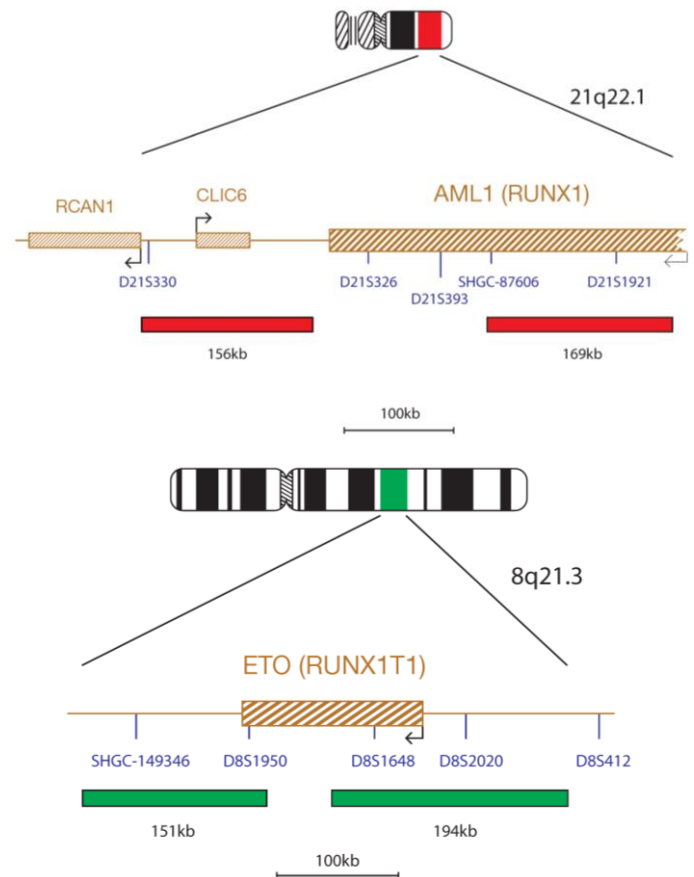
RUNX1 (*RUNX*-perheen transkriptiotekijä 1) -geeni kohdassa 21q22.12 fuusioituu RUNX1T1 (*RUNX1* -partnerin transkription korepressorin 1) geeniin Ensemble-paikassa 8q21.3, translokaatiossa t(8;21)(q22;q22), jota tavataan useimmin potilailta, joilla on akuutti myeloinen leukemia (AML) FAB (ranskalais-amerikkalais-brittiläinen luokitus) tyyppiä M2.

AML ja RUNX1-RUNX1T1-fusio, joka on seurausta translokaatiosta t(8;21)(q22;q22) on tunnistettu tautikokonaisuus Maailman terveysjärjestön (WHO) myeloisten neoplasmien ja akuuttien leukemioiden luokituksen mukaisesti<sup>1</sup>. Translokaatiota tavataan 10–22 prosentilla AML FAB tyyppin 2 potilaita ja 5–10 prosentilla kaikista AML-tapauksista, useimmiten lapsilla ja nuorilla aikuisilla<sup>2</sup>, ja se on hyvä ennustetekijä<sup>3,4,5</sup>. Katkoskohta t(8;21) esiintyy pääasiassa intronissa eksonien 5 ja 6 välillä juuri ennen transaktivaatiodomeenia, ja syntyvä fuusioproteiini sisältää RUNX1:n DNA:ta sitovan domeenin, joka on fuusioitunut transkriptiotekijään RUNX1T1<sup>2</sup>.

RUNX1-RUNX1T1-fusion synnyttävän resiprookkisen t(8;21) translokaation lisäksi on myös raportoitu vaihtoehtoisia translokaatioita. Nämä vaihtoehtoiset translokaatiot voivat olla kryptisiä ja jäädä helposti huomaamatta G-raita-ärrjäkssä. FISH-analyysillä voidaan kuitenkin todeta tällaiset uudelleenjärjestykset<sup>2</sup>.

### Koettimen tekniset tiedot

AML1, 21q22.12, punainen  
ETO, 8q21.3, vihreä



AML1-komponentti sisältää punaisella leimatun 156 kb:n koettimen, joka paikantuu AML1 (RUNX1) -geenin sentromeeriseen osaan ja kattaa CLIC6-geenin sekä 169 kb:n koettimen, joka kattaa AML1 (RUNX1) -geenin osan, mukaan lukien markkerit SHGC-87606 ja D21S1921. Vihreällä leimattu ETO (RUNX1T1) -komponentti sisältää 151 kb:n koettimen, joka kattaa geenin sentromeerisen osan ja sen viereisen alueen sekä 194 kb:n koettimen, joka kattaa geenin telomeerisen osan sekä sen viereisen alueen.

### 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:

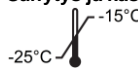
150 µl pulloa kohti (15 testiä)  
Vastaväri on DAPI häipymistä ehkäisevä (ES: 0,125 µg/ml DAPI (4,6-diamidino-2-fenyyli-indoli)).

### Varoitukset ja varoimet

1. Tarkoitettu *in vitro*-diagnostiikkakäyttöön. Vain ammattikäyttöön.
2. Käytä käsieneitä käsitellessäsi DNA-koettimia ja DAPI-vastaväriä.

- Anturiseokset sisältävät formamidiä, joka on teratogeeni: älä hengitä höyryä sisään tai päästä ainetta kosketuksiin ihon kanssa. Käsiteltävä varoen: käytä käsinettä ja laboratoriotakkia.
- DAPI on potentiaalinen karsinogeeni. Käsiteltävä varoen: käytä käsinettä ja laboratoriotakkia.
- Hävitä kaikki vaaralliset materiaalit laitoksesi vaarallisten jätteiden hävittämistä koskevien ohjeiden mukaan.
- Käyttäjien on 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 °C ... -15 °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 sisällytymättömät

Kalibroituja laitteistoja on käytettävä:

- Lämpölevy (kiinteällä levyllä ja tarkalla lämpötilan hallinnalla 80 °C:n lämpötilaan saakka)
- Kalibroidut tilavuudeltaan vaihtelevat mikropipetit ja kärjet, 1–200 µl
- Vesikylypöytä tarkalla lämpötilan hallinnalla 37 °C:n ja 72 °C:n lämpötilassa
- Mikrosentrifugiletkut (0,5 ml)
- Fluoresenssimikroskooppi (katso Fluoresenssimikroskooppisuositus-osio)
- Vaihekontrastimikroskooppi
- Coplin-purkit puhdasta muovia, keramiikkaa tai lämmönkestävää lasia
- Pihdit
- Kalibroitu pH-mittari (tai pH-indikaattorilevyt, joilla voidaan mitata 6,5–8,0:n pH-arvo)
- Kostutettusäiliö
- Fluoresenssiluokan mikroskooppilinsin immersioöljy
- Työpöytäsentrifugi
- Mikroskooppiohjelmakäyttö
- 24 x 24 mm:n peitelasit
- Ajastin
- 37 °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

### Fluoresenssimikroskooppisuositus

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

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 kolmoiskaistanpäästösuoatinta tai vihreän spektrin/punaisen spektrin kaksiskaistanpäästösuoatinta 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 suodatintien väliin suhteen.

### Näytteen valmistelu

Sarja on suunniteltu käytettäväksi hematologisesti johdettuihin solususpensioihin, jotka on fiksatoitu Carnoy'n liuosfiksatiiviiin (3:1 metandi/etiikkahappo), jotka on

valmisteltu laboratorion tai laitoksen suuntaviivojen mukaisesti. Valmistele ilmakeuivatut näytteet mikroskoopin objektiivilaseille sytogeneettisten vakioitoimenpiteiden mukaisesti. AGT-sytogeneetikkalaboratorion opaskirja sisältää suosituksia näytteen keräämisestä, viilyästä, poiminnasta ja objektiivilasiin valmistelusta<sup>6</sup>.

### 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 koettimien ja vastavärien altistuminen laboratorioväliöljy on aina rajallista).

#### Objektiivilasin valmistelu

- Laita pisara solunäytettä mikroskooppiohjelmakäyttöön. Anna kuivua.
- 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 °C:n (+/- 1 °C) lämpölevylle 5 minuutiksi.
- Laita 10 µl koetinseosta sdunäytteelle ja aseta peitelasi varoen paikalleen. Sulje kumiliuosliimalla ja anna liiman kuivua täysin.

#### Denaturaatio

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

#### Hybridisaatio

- Laita objektiivilasi yöksi kosteaan valonkestävään säiliöön 37 °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 °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 DAPIn.
- Peitä peitelasilla, poista mahdolliset kuplat ja anna väriin kehittyä pimeässä 10 minuuttia.
- Tarkastele fluoresenssimikroskoopilla. (Katso Fluoresenssimikroskooppisuositus.)

#### Valmiiden objektiivilasiin vakaus

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

#### Toimenpidesuosituks

- Objektiivilasiin sintraaminen tai ikäännyttäminen saattaa heikentää signaalin fluoresenssia.
- Muiden kuin Cytocell Ltd -yhtiön toimittamien tai suosittelemien reagenssien käyttö saattaa vaikuttaa haitallisesti hybridisaatio-olosuhteisiin.
- Käytä liuosten, vesikylypöydien ja inkubaattorien lämpötilojen mittaukseen kalibroituja lämpömittareita, sillä nämä lämpötilat ovat ratkaisevan tärkeitä tuotteen optimaalisen suorituskykyyn kannalta.
- Pesupitoisuudet, pH-arvo ja lämpötilat ovat tärkeitä, sillä liiallinen löyhyyttä saattaa johtaa koettimien epäspesifiseen sitoutumiseen ja liiallinen ankaruus signaaliin puuttumiseen.

- Epätäydellinen denaturaatio saattaa johtaa signaalin puuttumiseen ja liiallinen denaturaatio saattaa myös johtaa epäsäpesifiseen sitoutumiseen.
- Liiallinen hybridisaatio saattaa johtaa ylimääräisiin tai odottamattomien signaaleihin.
- Käyttäjien on optimoitava omien näytteidensä protokolla ennen testin käyttöä.
- Suboptimaaliset olosuhteet saattavat johtaa epäsäpesifiseen sitoutumiseen, jotka saatetaan tulkita koetinsignaaleiksi.

#### Tulosten tulkitseminen

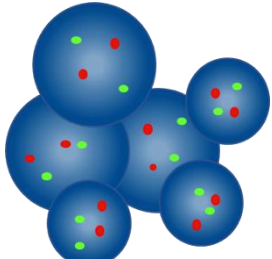
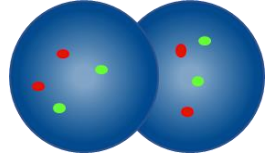
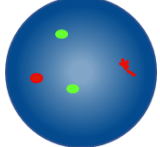
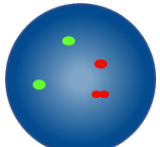
##### Objektiivilasin laadun arviointi

Objektiivilasia ei tarvitse analysoida, jos:

- Yksittäisten signaalien signaalit ovat liian heikkoja analysoitavaksi – jotta analyysia voidaan jatkaa, signaalien on näyttävä kirkkaina, selkeinä ja helposti arvioitavina
- Analyyttien 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

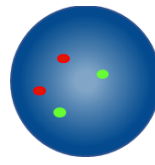
##### Analysointiohjeet

- 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
- Kunakin 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 epäsäpesifistä 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 koskettavat 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 signaalileveyttä

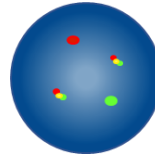
#### Odotettavissa olevat tulokset

##### Odotettavissa oleva normaali signaalikuvio



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

##### Odotettavissa oleva epänormaali signaalikuvio



Solussa, jossa on translokaatio t(8;21)(q21.3;q22.12), odotettavissa oleva signaalikuvio on yksi punainen, yksi vihreä ja kaksi fuusiota (1P, 1V, 2F).

Muut signaalikuviot ovat mahdollisia aneuploidisissa/epätasapainoisissa näytteissä.

##### Tunnettu ristireaktiivisuus

Ei tunnettua ristireaktiivisuutta.

##### Haittatapahtumista raportointi

Jos uskot, että tässä laitteessa on ilmennyt toimintahäiriö tai että sen suorituskyvymuutoksissa 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 tapahtumasta on ilmoitettava myös kansallisille toimivaltaisille viranomaisille. Luettelo vaaratilanteiden yhteystiedoista on seuraavassa osoitteessa: <http://ec.europa.eu/growth/sectors/medical-devices/contacts/>.

##### Erityiset suorituskyvymuutokset

##### 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 jaettuna hybridisoituneiden FISH-signaalien kokonaismäärällä.

Taulukko 1. AML1/ETO (RUNX1/RUNX1T1) Translocation. Dual Fusion Probe -koettimen analyttinen spesifisyys

Koetin	Kohdelokus	Oikeaan lokukseseen hybridisoituneiden signaalien määrä	Kaikkien hybridisoituneiden signaalien kokonaismäärä	Spesifisyys (%)
Punainen AML1	21q22	200	200	100
Vihreä ETO	8q21.3	200	200	100

##### Analyttinen herkkyys

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

Taulukko 2. AML1/ETO (RUNX1/RUNX1T1) Translocation. Dual Fusion Probe -koettimen analyttinen herkkyys

Sellaisten solujen määrä, joilla on odotettavissa olevat signaalikuviot	Sellaisten solujen määrä, joilla on tulosten laskennassa käytettävät signaalit	Herkkyys (%)	95 %:n luottamusväli
4965	5000	99,30	99,03 – 99,50

##### 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 uudelleenjärjestykselle 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. AML1/ETO (RUNX1/RUNX1T1) Translocation. Dual Fusion Probe -koettimen normaalien raja-arvojen luokittelu

Epänormaali signaalikuvio	Raja-arvon määrittämisessä analysoitujen näytteiden lukumäärä	Näytettä kohden analysoitujen tumien lukumäärä	Väärin positiivisten signaalikuvioiden suurin lukumäärä	Normaali raja-arvo (%)
1P, 1V, 2F	1290	200	1	2,3

Laboratorioiden on tarkistettava raja-arvot käyttäen omia tietojaan<sup>7, 8</sup>.

#### 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 suoritti myös erän sisäisen uusittavuustestin käyttäen kolmea eri koetinerää.

Uusittavuus laskettiin käyttäen kunkin testin aikana tutkittujen muuttujen yhtäpitävyyttä.

**Taulukko 4. AML1/ETO (RUNX1/RUNX1T1) Translocation, Dual Fusion Probe -koettimen uusittavuus**

Uusittavuustutkimus	Näyte	Yhtäpitävyys (%)
Päivänsäinen/päivienvälinen/kohteidenvälinen	Negatiivinen	100
	Vahvasti positiivinen	100
Eränsäinen	Negatiivinen	100
	Vahvasti positiivinen	100

#### Kliininen suorituskyky

Kliininen suorituskyky määritettiin käyttäen sellaisten valikoimattomien potilaiden edustavaa joukkoa, jotka olivat saaneet lähetteen AML:n vuoksi kahteen eri kohteeseen (100 näytettä kerättiin kohteesta yksi, ja 414 näytettä kohteesta kaksi). 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. AML1/ETO (RUNX1/RUNX1T1) Translocation, Dual Fusion Probe -koettimen kliininen suorituskyky**

Uudelleenjärjestely	Prevalenssi				
	Kirjallisuuskatsaus (%)	95% LCI (%)	Kohde 1 (%)	Kohde 2 (%)	95% UCL (%)
AML ja t(8;21)/RUNX1-RUNX1T1 uudelleenjärjestely	3,8	1,2	0	1,69	10,2

#### 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.*, (eds.) WHO Classification of Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissue, Lyon, France, 4th edition, IARC, 2017
2. Reikvam H, *et al.*, J Biomed Biotechnol. 2011; 2011:104631
3. Grimwade *et al.*, Blood 2001;98(5):1312-1320
4. Harrison *et al.*, Journal of Clinical Oncology 2010;28(16):2674-2681
5. Grimwade *et al.*, Blood 2010;116(3):354-365
6. Arsham, MS., Barch, M.J. and Lawce H.J. (eds.) (2017) *The AGT Cytogenetics Laboratory Manual*. New Jersey: John Wiley & Sons Inc.
7. 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.
8. 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
IVD	fi: Lääkinnällinen laite <i>in vitro</i> -diagnoosiin
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