



A Sysmex Group Company



## Käyttöohje

VIITE: CE-LPH 039-S / CE-LPH 039

### CKS1B/CDKN2C (P18) Amplification/Deletion Probe



VAIN AMMATIKÄYTTÖÖN



Lisätietoja ja muita kielii saatavilla osoitteesta [ogt.com/IFU](http://ogt.com/IFU)

#### Käyttötarkoitus

CytoCell® CKS1B/CDKN2C (P18) Amplification/Deletion Probe -koetin on kvalitatiivinen, ei-automatisoitu FISH (fluorescence *in situ* hybridisation) -testi, jota käytetään kromosomien lisäysten ja puuttumisten havaitsemiseen kromosomin 1 alueilla 1p32.3 ja 1q21 Carnoy'n liuokseen (3:1 metanoli/etikkahappo) fiksoiduille, hematologisesti johdetuille solususpensioille potilailta, joilla on vahvistettu tai epäilty multipple myelooma (MM).

#### Käyttöaiheet

Tämä laite on suunniteltu käytettäväksi muiden kliinisten ja histopatologisten testien lisäksi vakiintuneissa diagnostiikan ja kliinisen hoidon hoitopoluissa, joissa CKS1B- tai CDKN2C (P18) -translokaation tilan tunteminen olisi tärkeää kliiniselle hoidolle.

#### Rajoitukset

Laite on suunniteltu havaitsemaan genomien lisäyksiä tai puuttumista suuremmalta kuin tämän koetinsarjan punaisten ja vihreiden kloonien kattamilta alueilta, joihin sisältyvät CKS1B- ja CDKN2C (P18) -alueet. Tämä laite ei ehkä havaitse kyseisten alueiden ulkopuolisia lisäyksiä tai puuttumisia tai osittaisia lisäyksiä tai puuttumisia.

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 diagnostisten 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 laboratoriotutkimukseen.

Mikäli protokollaa ei noudateta, se saattaa vaikuttaa suorituskyykyyn 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 interfaasitumista. Tekniikassa käytetään DNA-koettimia, joiden avulla hybridisaatio koskee kokonaisiaromosomeja 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, fluoresenssimerkittyä DNA-koettimella, 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

CKS1B (CDC28-proteiinikinaasi säätelevä alayksikkö 1B) -geeni sijaitsee alueella 1q21, ja CDKN2C (sykliinistä riippuvaisen kinaasin estäjä 2C) -geeni sijaitsee alueella 1p32.3.

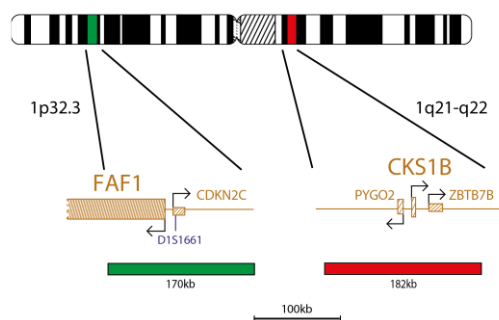
Lisäys CKS1B:n sisältävällä alueella 1q21 on yksi useimmin multippleissa myeloomassa tavatuista kromosomipoikkeamista<sup>1</sup>. CKS1B-geenin ylikspressio säätelee solukierron etenemistä, mistä aiheutuu proliferatiivisempi sairaus<sup>2</sup>. Tämä liittyy multipplein myelooman edistyneempään fenotyyppiin, ja saattaa siten liittyä huonompaan ennusteeseen ja sairauden etenemiseen<sup>1,2,3</sup>. 1q21:n lisäys on yhdistetty huonompaan henkiinjääntiin, ja lisäämplyfikaatiota havaitaan sairauden relapseissa. Kromosomin 1 pitkän varren kokonainen lisäys on myös yleistä multippleissa myeloomassa, ja sitä voi ilmetä isokromosomeina, duplikaatioina tai hyppivinä translokaatioina, ja ne yhdistetään usein sairauden etenemiseen<sup>4</sup>.

CDKN2C on tuumorisuppressorigeeni, joka huolehtii apoptoottisen solukuoleman aiheuttamisesta ja DNA:n fragmentaatiosta<sup>5</sup>. Sitä säätelee sytokiini IL-6:n ilmentyminen, ja geenin homotsygoottinen deleetio liitetään proliferatiivisempaan sairauteen<sup>5</sup>. Vaikka CDKN2C:n deleetioiden on raportoitu olevan harvinaisia ihmisten syövyissä, sytogeneettisissä analyyseissa on todettu, että alueen 1p32-36 poikkeamia ilmenee noin 16 prosentissa ihmisten multippleista myeloomista, ja ne liitetään huonompaan yleiseen henkiinjääntiin<sup>2,3,5,6</sup>.

Sytogeneettisiä poikkeamia on havaittu perinteisellä sytogenetiikalla noin yhdessä kolmesta multipplein myelooman tapauksesta, mutta FISH lisää havaittujen kromosomipoikkeamien osuuden > 90 prosenttiin<sup>7</sup>.

#### Koettimen tekniset tiedot

CKS1B, 1q21-q22, punainen  
CDKN2C (P18), 1p32.3, vihreä



CKS1B/CDKN2C-tuote koostuu punaisella leimatusta 182 kb:n koettimesta, joka kattaa koko CKS1B-geenin ja sen viereiset alueet, mukaan lukien geenit PYGO2 ja ZBTB7B, sekä vihreällä koettimesta, joka kattaa 170 kb:n alueen mukaan lukien koko CDKN2C-geenin, D1S1661-markkerin ja FAF1-geenin sentromeerisen pään.

#### Toimitettavat materiaalit

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

Koettimet toimitetaan ennalta sekoitettuna hybridisaatio-liuokseen (< 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-fenyylindoli) glyserolipohjaisessa preparointiaineessa).

#### Varoitukset ja varotoimet

- In vitro* -diagnostiseen käyttöön. Vain ammattikäyttöön laboratoriossa.
- Koetinseokset sisältävät formamidia, joka on teratogeeni: älä hengitä höyryä sisään tai päästä ainetta kosketuksiin ihon kanssa. Käsiteltävä varoen: käytä käsineitä ja laboratoriotakkaa.
- Käsittele DAPIa varoen: käytä käsineitä ja laboratoriotakkaa.
- 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 vaarallisuustason 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.

12. 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 määrittelyn 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. Vesikylpy 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 mikroskooppilinnsin immersioöljy
  12. Työpöytäsentrifugi
  13. Mikroskooppiobjekttilasi
  14. 24 x 24 mm:n peitelasit
  15. Ajustin
  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-apokromaattiobjektiveja parhaaseen mahdolliseen visualisointiin. Tässä koetinsarjassa käytettävät loisteaineet virittyvät ja säteilevät seuraavilla aaltopituuksilla:

| Loisteaine | Viritysmaks [nm] | Emissio maks [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 kolmoisikaistanpäästösuodatinta tai vihreän spektrin/punaisen spektrin kaksoiskaistanpäästösuodatinta 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 DAPIn sekoittamista mikroskoopin immersioöljyn kanssa, sillä se hämärtää signaaleita. Noudata valmistajien suosituksia lampun käyttöön ja suodatinten iän suhteen.

**Näytteen valmistelu**

Sarja on suunniteltu käytettäväksi Carnoy'n liuosfiksatiiviin (3:1 metanoli/etikkahappo) fiksotuihin, hematologisesti johdettuihin solususpensioihin, jotka on valmistettu laboratorion tai laitoksen suuntaviivojen mukaisesti. Valmistele ilmakeivätyt näytteet mikroskoopin objektiivilaseille sytogeneettisten vakiotuotteenpiteiden mukaisesti. AGT-sytogeneettikalaboratorion opaskirja sisältää suosituksia näytteen keräämisestä, viljelystä, poiminnasta ja objektiivilasiin valmistelusta<sup>8</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 koettimen ja vastavärin altistuminen laboratoriovaloille on aina rajallista).

**Objektiivilasin valmistelu**

1. Laita pisara solunäytettä mikroskooppiobjekttilasille. Anna kuivua. (Valinnaista, jos käytetään sytogeneettistä kuivauskammioita: Kammiota on käytettävä noin 25 °C:n lämpötilassa ja 50 %:n kosteudessa, jotta solunäytepisara voidaan asettaa optimaalisesti lasille. Mikäli sytogeneettistä kuivauskammioita ei ole saatavilla, käytä vaihtoehtoisesti vetokaappia).
2. Uputa 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. Uputa objektiivilasi 0,4 x SSC-liuokseen (pH 7,0) 2 minuutiksi 72 °C:n (+/- 1 °C) lämpötilassa ravistamatta.
15. Tyhjennä objektiivilasi ja uputa 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 fluoresenssimikroskooppilla (katso **Fluoresenssimikroskooppisuositus**).

**Toimenpidesuosituks**

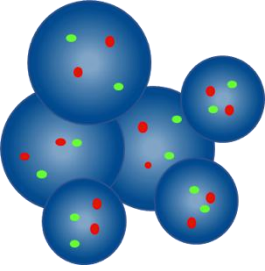
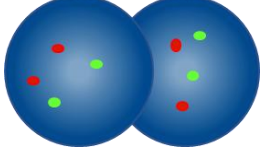
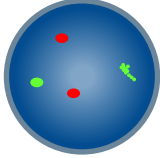
1. Objektiivilasiin sintraaminen tai ikäännyttäminen saattaa heikentää signaalien fluoresenssia.
2. Muiden kuin Cytocell Ltd -yhtiön toimittamien tai suosittelemien reagenssien käyttö saattaa vaikuttaa haitallisesti hybridisaatio-olosuhteisiin.
3. Käytä liuosten, vesikylpyjen ja inkubaattorien lämpötilojen mittaukseen kalibroituja lämpömittareita, sillä nämä lämpötilat ovat ratkaisevan tärkeitä tuotteen optimaalisen suorituskäytön kannalta.

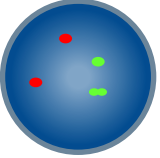
4. Pesupitoisuudet, pH-arvo ja lämpötilat ovat tärkeitä, sillä liiallinen löyhyys saattaa johtaa koettimen epäspesifiseen sitoutumiseen ja liiallinen ankaruus signaalin puuttumiseen.
5. Epätäydellinen denaturaatio saattaa johtaa signaalin puuttumiseen ja liiallinen denaturaatio saattaa myös johtaa epäspesifiseen 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**

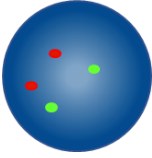
- Objektiivilasia ei tarvitse analysoida, jos:
- yksittäisten suodatinten signaalit ovat liian heikkoja analysoitavaksi – jotta analyysia voidaan jatkaa, signaalin on näytävä kirkkaina, selkeinä ja helposti arvioitavina
  - analyysia vaikeuttaa suuri määrä yhteen kasautuneita / päällekkäisiä soluja
  - >50 % soluista ei ole hybridisoituneita
  - solujen välissä on liikaa fluoresoivia hiukkasia ja/tai fluoresoivaa utua, joka häiritsee signaaleita – optimaalisissa objektiivilaseissa taustan pitäisi näkyä tummana tai mustana ja puhtaana
  - solun tuman rajoja ei voida erottaa, eivätkä ne ole eheitä.

- Analysointiohjeet**
- Kahden analyytikon pitäisi analysoida ja tulkita jokainen näyte. Kaikki eriävyydet on annettava kolmannen analyytikon arvioitavaksi.
  - Jokaisella analyytikolla on oltava sopiva pätevyys tunnustettujen kansallisten standardien mukaan.
  - Jokaisen analyytikon pitäisi saada riippumattomasti 100 tumaa kustakin näytteestä. Ensimmäisen analyytikon pitäisi käynnistää analyysi objektiivilasin vasemmalta puolelta ja toisen analyytikon oikealta puolelta.
  - Kunkin analyytikon on dokumentoitava tuloksiaan erillisillä arkeilla.
  - Analysoi vain eheitä tumia, ei päällekkäisiä tai yhteen kasautuneita tumia tai sellaisia tumia, jotka ovat sytoplasmajätteen peitossa tai joissa on runsaasti autofluoresenssia.
  - Vältä alueita, joilla on liiallista sytoplasmajätettä tai epäspesifistä hybridisaatiota.
  - Signaalin intensiteetti saattaa vaihdella yksittäisenkin tuman kohdalla. Käytä tällaisissa tapauksissa yksittäisiä suodatintumia ja/tai säädä fokustasoa.
  - Suboptimaalisissa olosuhteissa signaalit saattavat näyttää hajanaisilta. Jos kaksi samanväristä signaalia koskettaa toisiaan, jos niiden välinen etäisyys on enintään yhtä suuri kuin kahden signaalin leveys tai jos kahta signaalia yhdistää heikko säie, katso ne yhdeksi signaaliksi.
  - Analysoitaessa kaksivärisiä irrotettavia koettimia signaalit on laskettava muiksi kuin uudelleenjärjestellyiksi/fuusiointuneiksi, jos punaisen ja vihreän signaalin välinen rako on enintään kahden signaaliilevyyden kokoinen.
  - Analysoitaessa kolmevärisiä irrotettavia koettimia signaalit on laskettava muiksi kuin uudelleenjärjestellyiksi/fuusiointuneiksi, jos jonkin kolmesta signaalista (punainen, vihreä, sininen) välissä on enintään kahden signaaliilevyyden 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 kontrollisignaaliiksi – toinen kahdesta vihreästä signaalista on hajanainen |

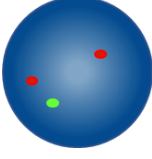
|                                                                                   |                                                                                                                |
|-----------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|  | Laske kahdeksi fuusiosignaaliiksi – yhden vihreän signaalin rako on enintään kahden signaaliilevyyden kokoinen |
|-----------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------|

**Odotettavissa olevat tulokset**  
**Odotettavissa oleva normaali signaalikuvio**

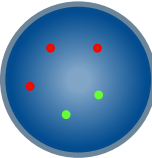


Tavallisessa solussa on odotettavissa kaksi punaista ja kaksi vihreää signaalia (2P2V).

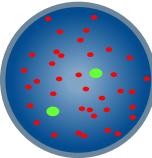
**Odotettavissa olevat epänormaalit signaalikuviot**



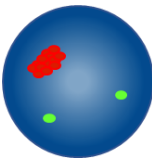
Jos solussa on 1p32.3:n deleetio, odotettavissa oleva signaalikuvio on kaksi punaista ja yksi vihreä signaali (2P1V).



Jos solussa on lisäys 1q21-lokuksessa, odotettavissa on kaksi vihreää ja kolme tai useampia punaisia signaaleita (3+P2V).



Jos solussa on 1q21-lokuksen amplifikaatio, se voi näkyä suurena määränä pieniä punaisia signaaleja kaikkialla sytoplasmassa sekä kahtena vihreänä kontrollisignaalina (ampP2V).



Jos solussa on 1q21-lokuksen amplifikaatio, josta seuraa HSR-alue, havaitaan suuri määrä punaisia signaaleja pidentyneessä ja laajentuneessa kromosomisegmentissä sekä kaksi vihreää kontrollisignaalia (ampP2V).

Muut signaalikuviot ovat mahdollisia aneuploidisissa/epätasapainoisissa näytteissä.

**Tunnetut olennaiset häiriöt / häiritsevät aineet**  
 Ei tunnettuja olennaisia häiriöitä / häiritseviä aineita.

**Tunnettu ristireaktiivisuus**  
 Ei tunnettua ristireaktiivisuutta

**Vakavista vaaratilanteista ilmoittaminen**  
 Potilaan / käyttäjän / kolmannen osapuolen, joka 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@oqt.com](mailto:vigilance@oqt.com)

Erityiset suorituskykyominaisuudet

Analyttinen spesifisyys

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

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

Taulukko 1. CKS1B/CDKN2C (P18) Amplification/Deletion Probe -koettimen analyttinen spesifisyys

| Kohde  | Hybridisoituneiden metafaasikromosomien lukumäärä | Oikein hybridisoituneiden lokusten lukumäärä | Analyttinen spesifisyys | 95 %:n luottamusväli |
|--------|---------------------------------------------------|----------------------------------------------|-------------------------|----------------------|
| 1q21   | 200                                               | 200                                          | 100 %                   | 98,12–100 %          |
| 1p32.3 | 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 CD138+-plasma-solususpensiosta, jotka katsottiin negatiivisiksi CKS1B-lisäyksen/-amplifikaation osalta tai CDKN2C-delektion osalta, jolloin saatiin vähintään 2500 tumaa näytetyyppeä kohden. Herkkyystiedot analysoidiin niiden solujen prosenttimäärän perusteella, jotka osoittivat normaalia odotettavissa olevaa signaalkuviota, ja tulos ilmaistiin prosenttiosuudella sekä 95 prosentin luottamusvälillä.

Taulukko 2. CKS1B/CDKN2C (P18) Amplification/Deletion Probe -koettimen analyttinen herkkyys

| Näytteen tyyppi | Herkkyys kriteerit | Herkkyys tulos             |
|-----------------|--------------------|----------------------------|
| Luuydin         | >95 %              | 98,68 %<br>(97,87–99,49 %) |
| CD138+          | >95 %              | 95,95 %<br>(94,96–96,94 %) |

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 CD138+-solususpensiosta, jotka katsottiin negatiivisiksi CKS1B-lisäyksen/-amplifikaation osalta tai CDKN2C-delektion osalta, jolloin saatiin vähintään 2500 tumaa näytetyyppeä 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. CKS1B/CDKN2C(P18) Amplification/Deletion Probe -koettimen normaalien raja-arvojen luokittelu

| Näytteen tyyppi | Raja-arvojen tulos 3P2V | Raja-arvojen tulos 2P1V |
|-----------------|-------------------------|-------------------------|
| Luuydin         | 5,93 %                  | 5,71 %                  |
| CD138+          | 9,24 %                  | 10,21 %                 |

Laboratorioiden on tarkistettava raja-arvot käyttäen omia tietojaan<sup>9,10</sup>.

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 kolmella (3) näytteellä: 1 normaalin CD138+:n näyte, 1 heikosti CD138+-positiivinen näyte 2P1V-signaalkuviolle (-CDKN2C) ja 1 heikosti CD138+-positiivinen näyte 3P2V-signaalkuviolle (+CKS1B). Heikosti CD138+-positiiviset näytteet valmistettiin käyttämällä CD138+-negatiivisten näytteiden osuutta ja lisäämällä siihen tunnettua CD138+-positiivista näytettä, jotta saatiin heikosti positiivisia näytteitä, joiden pitoisuus on 2–4x raja-arvo ja joita käytettiin määritetyn raja-arvon haastamiseen.

Päivien välisen ja päivän sisäisen tarkkuuden määrittämiseksi näytteet arvioitiin 10 ei-peräkkäisen päivän ajalta. Erien välisen tarkkuuden määrittämiseksi kolme (3) tuote-erää arvioitiin kolmesta (3) saman näytteen replikaatista. Tulokset

esitettiin yleisenä yhtäpitävyytenä ennakoitujen negatiivisen luokan kanssa (negatiivisten näytteiden osalta).

Taulukko 4. CKS1B/CDKN2C (P18) Amplification/Deletion Probe -koettimen uusittavuus ja tarkkuus

| Muuttuja                                    | Näytteen tyyppi                             | Yhtäpitävyys |
|---------------------------------------------|---------------------------------------------|--------------|
| Päivän sisäinen ja päivien välinen tarkkuus | Normaali CD138+ (negatiivinen)              | 100 %        |
|                                             | Heikosti CD138+-positiivinen 2P1V (-CDKN2C) | 100 %        |
|                                             | Heikosti CD138+-positiivinen 3P2V (+CKS1B)  | 100 %        |
| Erien välinen tarkkuus                      | Normaali CD138+ (negatiivinen)              | 100 %        |
|                                             | Heikosti CD138+-positiivinen 2P1V (-CDKN2C) | 100 %        |
|                                             | Heikosti CD138+-positiivinen 3P2V (+CKS1B)  | 100 %        |

Kliininen suorituskyky

Sen määrittämiseksi, havaitseeko tuote aiottuja uudelleenjärjestymiä, kliininen suorituskyky määritettiin suorittamalla 1 tutkimus edustaville otoksille tuotteen aiotusta populaatioista: metanoli/etikahappofiksatiivilla fiksoidusta hematologisesti johdettujen näytteiden jäännösmateriaalista. Tutkimuksen otannan koko oli 23 näytettä ja kohdepopulaatio 10 positiivista näytettä joko CKS1B-amplifikaatiolle tai CDKN2C-deleetiolla tai molemmille ja 13 negatiivista näytettä sekä CKS1B-amplifikaatiolle että CDKN2C-deleetiolla. Kaikki näytteet tehtiin tunnistamattomiksi ja satunnaistettiin analyysiharjojen välttämiseksi. Tuloksia verrattiin näytteen tunnettuun tilaan. Koetin tunnisti oikein näytteiden tilan kaikissa tapauksissa.

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

Taulukko 5. CKS1B/CDKN2C (P18) Amplification/Deletion Probe -koettimen kliininen suorituskyky. CKS1B-amplifikaation tulokset

| Muuttuja                                                  | Tulos   |
|-----------------------------------------------------------|---------|
| Kliininen herkkyys (oikeiden positiivisten osuus, TPR)    | 98,71 % |
| Kliininen spesifisyys (oikeiden negatiivisten osuus, TNR) | 99,75 % |
| Väärin positiivisten osuus (FPR) = 1 – spesifisyys        | 0,25 %  |

Taulukko 6. CKS1B/CDKN2C (P18) Amplification/Deletion Probe -koettimen kliininen suorituskyky, CDKN2C-delektion tulokset

| Muuttuja                                                  | Tulos |
|-----------------------------------------------------------|-------|
| Kliininen herkkyys (oikeiden positiivisten osuus, TPR)    | 100 % |
| Kliininen spesifisyys (oikeiden negatiivisten osuus, TNR) | 100 % |
| Väärin positiivisten osuus (FPR) = 1 – spesifisyys        | 0 %   |

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: 50558449LPH039JS

Jos Eudamed ei ole täysin toiminnallinen, SSP saatetaan yleisön saataville pyynnöstä sähköpostitse osoitteeseen [SSP@ogt.com](mailto: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](mailto:techsupport@cytozell.com)  
Verkkosivut: [www.ogt.com](http://www.ogt.com)

Viitteet

- Hanamura I, Blood 2006;108(5):1724-32
- Fonseca *et al.*, Leukemia 2009;23(12):2210-2221
- Sawyer, Cancer Genetics 2011;204(1):3-12
- Fonseca *et al.*, Leukemia 2006;20(11):2034-40
- Leone *et al.*, Clin Cancer Res 2008;14(19):6033-41
- Kulkarni *et al.*, Leukemia 2002;16:127-34
- Swerdlow *et al.*, (eds.) WHO Classification of Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissue, Lyon, France, 4th edition, IARC,2017
- Arsham, MS., Barch, MJ. and Lawce HJ. (eds.) (2017) *The AGT Cytogenetics Laboratory Manual*. New Jersey: John Wiley & Sons Inc.
- Mascarello JT, Hirsch B, Kearney HM, et al. Section E9 of the American College of Medical Genetics technical standards and guidelines: fluorescence in situ hybridization. Genet Med. 2011;13(7):667-675.
- Wiktor AE, Dyke DLV, Stupca PJ, Ketterling RP, Thorland EC, Shearer BM, Fink SR, Stockero KJ, Majorowicz JR, Dewald GW. *Preclinical validation of fluorescence in situ hybridization assays for clinical practice*. Genetics in Medicine. 2006;8(1):16–23.



Symbolisanasto

| EN ISO 15223-1:2021 – ”Lääkinnälliset laitteet – Valmistajan toimittamissa tiedoissa käytettävät symbolit. Osa 1: Yleiset vaatimukset”<br>(© 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          |
| <br>ogt.com/IFU                                                                                             | fi: Tutustu sähköisiin käyttöohjeisiin                                 | 5.4.3          |
|                                                                                                             | fi: Huomio                                                             | 5.4.4          |
|                                                                                                            | fi: <i>In vitro</i> -diagnostinen lääkinällinen 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](mailto:probes@cytoCell.com)  
Verkkosivut: [www.ogt.com](http://www.ogt.com)



**Sysmex Europe SE**  
Bornbarch 1  
22848 Norderstedt  
SAKSA

Puh.: +49 40 527260  
Verkkosivut: [www.sysmex-europe.com](http://www.sysmex-europe.com)

**Käyttöohjeen versiohistoria**  
V001.00 2023-01-11: Uusi käyttöohje asetuksen (EU) 2017/746 vuoksi  
V002 2025-08-29: UKCA-merkinnän poistaminen.