



A Sysmex Group Company



Käyttöohje

REF: LPH 038-S / LPH 038

BCR/ABL (ABL1) Plus Translocation, Dual Fusion Probe -koetin



VAIN AMMATTIKÄYTTÖÖN



www.cytocell.com

Lisätietoja ja muita kielii saatavilla osoitteesta www.ogt.com

Rajoitukset

Laite on suunniteltu havaitsemaan uudelleenjärjestyymiä, joissa on katkoskohtia tämän koetinsarjan punaisten ja vihreiden kloonien kattamilla alueilla tai deleetioita tämän koetinsarjan sinisten kloonien kattamilla alueella, joihin sisältyvät *ABL*-, *BCR*- ja *ASS1*-alueet. Tämä tuote ei ehkä havaitse kyseisen alueen ulkopuolisia katkoskohtia, vaihtoehtoisia uudelleenjärjestyymiä tai osittaista puuttumista tällä alueella.

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 tulkinnan on oltava yhdenmukainen ammattimaisten käytäntöstandardien kanssa, ja niissä on otettava huomioon muut kliiniset ja diagnostiset tiedot. Sarja on tarkoitettu muiden diagnostisten laboratorioiden 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 BCR/ABL (ABL1) Translocation, Dual Fusion Probe -koetin on kvalitatiivinen, ei-automatisoitu FISH (fluorescence *in situ* hybridisation) -testi, jota käytetään kromosomien uudelleenjärjestyymien havaitsemiseen kromosomin 9 alueen 9q34.1 ja kromosomin 22 alueen 22q11 välillä Carnoy'n liuokseen (3:1 metanoli/etikahappo) fiksatoituille, hematologisesti johdetuille solususpensioille potilailta, joilla on vahvistettu tai epäilty krooninen myelooinen leukemia (KML), akuutti myelooinen leukemia (AML) tai akuutti lymfaattinen leukemia (ALL).

Käyttöaiheet

Tämä tuote on suunniteltu käytettäväksi muiden kliinisten ja histopatologisten testien lisäksi vakiintuneissa diagnostiikan ja kliinisen hoidon hoitopoluissa, joissa *BCR-ABL1*-translokaation tilan tunteminen olisi tärkeää kliiniselle hoidolle.

Testin periaatteet

Fluoresenssi *in situ* -hybridisaatio (FISH) on tekniikka, jonka avulla DNA-sekvenssejä voidaan havaita metafaasikromosomeista tai fiksatoitujen 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 tutkimusvälineenä raskauden aikaiseen, hematologiseen ja kiinteiden tumorien kromosomianalyyysiin. Kohde-DNA on fiksation ja denaturaation jälkeen saatavilla palautumiseksi samalla tavoin denaturoitua, fluoresenssimerkittyyn DNA-koettimeen, jolla on täydentävä sekvenssi. Hybridisaation jälkeen sitomaton ja muu kuin spesifisesti sidottu DNA-koetin poistetaan, ja DNA vastavärijätetään visuaalisointia varten. Sen jälkeen hybridisoitu koetin voidaan visualisoida fluoresenssimikroskopian avulla kohdemateriaalissa.

Koettimen tiedot

BCR (*RhoGEF:n* ja *GTPasen BCR-aktivaattori*) -geeni sijaitsee alueella 22q11.23 ja ABL1 (*ABL proto-onkogeeni 1, ei-reseptori tyrosiinkinaasi*) -geeni sijaitsee alueella 9q34.12 ja ASS1 (*arginosukkinaattisyntaasi 1*) -geeni sijaitsee alueella 9q34.11. BCR- ja ABL1-geenin välinen translokaatio synnyttää BCR-ABL1-fuusiogeenin ja tuottaa Philadelphia-kromosomin, translokaation näkyvän tuloksen.

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

Translokaatio t(9;22)(q34.12;q11.23) on kroonisen myelooinen leukemian (KML) tunnusmerkki, ja se on havaittavissa noin 90–95 prosentissa tapauksista¹. Muissa tapauksissa esiintyy jokin vaihtoehtoinen translokaatio tai niissä on 9q34.12n ja 22q11.23:n välillä jokin kryptinen uudelleenjärjestelmä, jota ei voida tunnistaa rutiinimaisella sytogeneettisellä analyysillä¹. BCR-ABL1-fuusiota esiintyy myös 25 prosentissa aikuisten akuuteista lymfaattisista leukemioista (ALL) ja 2–4 prosentissa lapsuusajan ALL-leukemioista¹. Tätä uudelleenjärjestymää nähdään myös harvinaisissa akuutin myelooinen leukemian (AML)² tapauksissa.

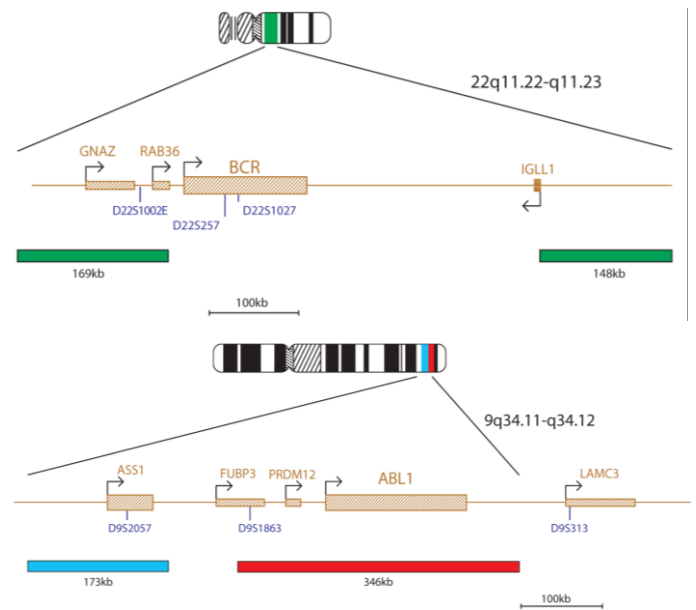
Kromosomien 9 ja 22 välisiin translokaatioihin voi liittyä proksimaalisten jaksojen puuttuminen johdannaiskromosomissa 9, mukaan lukien ASS1 (*arginosukkinaattisyntaasi 1*) -alue³. Samanaikaisesti esiintyvät ASS1-geenin deleetiot on yhdistetty huonompaan ennusteeseen KML-tapauksissa, vaikka se voidaan osittain kumota tyrosiinkinaasiesitäjillä (TKI) annettavalla hoidolla⁴; näin ollen epätyypillisten kuvioiden havaitseminen potilailta, joilla on BCR-ABL1-translokaatio, voi olla merkittäviä kliinisiä seuraamuksia niin diagnoosin kuin ennusteenkin kannalta.

Koettimen tekniset tiedot

ABL1, 9q34.11-q34.12, punainen

BCR, 22q11.22-q11.23, vihreä

ASS1, 9q34.11-q34.12, sininen



BCR/ABL1-koetinseos sisältää 169 kb:n vihreän koettimen, joka on sentromeerinen BCR-geenille ja johon sisältyvät geenit GNAZ ja RAB36. Toinen vihreä koetin kattaa 148 kb:n alueen BCR-geenin telomeerisella puolella, ja se kattaa osan IGLL1-geenistä. Punainen koetin kattaa 346 kb:n alueen, johon sisältyy ABL1-geeni. Lisäksi on sininen koetin, joka kattaa 173 kb:n alueen ja johon sisältyy koko ASS1-geeni.

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-fenylyyli-indoli)).

Varoitukset ja varoitusmerkit

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

- 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 anturien kanssa.
- Mikäli 10 µl:n koetinta ei käytetä protokollan esidenaturaatiovaiheessa, se saattaa vaikuttaa suorituskyykyyn 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 vastaväripuljoja 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

- Kalibroitu laitteisto on käytettävä:
- Lämpölevy (kiinteällä levyllä ja tarkalla lämpötilan hallinnalla 80 °C:n lämpötilaan saakka)
 - Kalibroidut tilavuudeltaan vaihtelevat mikropipetit ja kärjet, 1–200 µl
 - Vesikyly tarkalla lämpötilan hallinnalla 37 °C:n ja 72 °C:n lämpötilassa
 - Mikrosentrifugiletut (0,5 ml)
 - Fluoresenssimikroskooppi (katso Fluoresenssimikroskooppisuositus-osio)
 - Vaihekontrastimikroskooppi
 - Coplin-purkit puhdasta muovia, keramiikkaa tai lämmönkestävää lasia
 - Pihdit
 - Kalibroitu pH-mittari (tai pH-indikaattoriliuskat, joilla voidaan mitata 6,5–8,0:n pH-arvo)
 - Kostutettu säiliö
 - Fluoresenssiluokan mikroskooppilinsin immersioöljy
 - Työpöytäsentrifugi
 - Mikroskooppibjekttilasi
 - 24 x24 mm:n peitelasi
 - 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 elohopealampua tai vastaavaa ja öljyimmersion suunnitelman 60/63x- tai 100x-apokromaattiohjenteita parhaaseen mahdolliseen visualisointiin. Tässä koetinsarjassa käytettävät loisteaineet virittyvät ja säteilevät seuraavilla aaltopituuksilla:

Loisteaine	Viritys _{maks} [nm]	Emissio _{maks} [nm]
Sininen	418	467
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 kaksikaistanpäästösuodatinta vihreän ja punaisen loisteaineen optimaaliseen samanaikaiseen visualisointiin. Käytä sinisen spektrin yksinkertaista kaistanpäästösuodatinta sinisen spektrin optimaaliseen visualisointiin tai punaisen spektrin/vihreän spektrin/sinisen spektrin kolmoisikaistanpäästösuodatinta vihreän, punaisen ja sinisen loisteaineen samanaikaiseen visualisointiin.

Tarkista fluoresenssimikroskooppi ennen käyttöä varmistaaksesi, että se toimii asianmukaisesti. Käytä immersioöljyä, joka soveltuu fluoresenssimikroskoopille ja jonka koostumus on tarkoitettu alhaiselle automaattiselle fluoresenssille. Vältä häilymistä ehkäisevän DAPIn sekoittamista mikroskoopin immersioöljyn kanssa, sillä se hämärtää signaaleita. Noudata valmistajien suosituksia lampun käyttöön ja suodatinten iän suhteen.

Näytteen valmistelu

Sarja on suunniteltu käytettäväksi hematologisesti johdettuihin solususpensioihin, jotka on fiksatoitu Carnoy'n liuosfiksatiiviiin (3:1 metanoli/etikahappo), jotka on valmistettu laboratorion tai laitoksen suuntaviivojen mukaisesti. Valmistele ilmaukivat näytteet mikroskoopin objektiivilaseille sytogeneettisten

vakiotoimenpiteiden mukaisesti. AGT-sytogeneetikkalaboratorion opaskirja sisältää suosituksia näytteen keräämisestä, viilyästä, poiminnasta ja objektiivilasiin valmistelusta⁵.

Liuksen valmistus

Etanoli-liuokset

Laimenna 100 % etanoli akkuviedellä seuraavissa suhteissa ja sekoita huolellisesti.

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

Säilytä liuosta enintään 6 kuukautta huoneenlämpötilassa ilmatiiviissä säiliössä.

2 x SSC-liuos

Laimenna 1 osa 20 x SSC-liuosta 9 osaan akkuvettä ja sekoita huolellisesti. Tarkista pH ja säädä pH-arvoon 7,0 käyttäen natriumhydroksidia tai vetykloridia tarpeen mukaan. Säilytä liuosta enintään 4 viikkoa huoneenlämpötilassa ilmatiiviissä säiliössä.

0,4 x SSC-liuos

Laimenna 1 osa 20 x SSC-liuosta 49 osaan akkuvettä ja sekoita huolellisesti. Tarkista pH ja säädä pH-arvoon 7,0 käyttäen natriumhydroksidia tai vetykloridia tarpeen mukaan. Säilytä liuosta enintään 4 viikkoa huoneenlämpötilassa ilmatiiviissä säiliössä.

2 x SSC, 0,05 % Tween-20-liuos

Laimenna 1 osa 20 x SSC-liuosta 9 osaan akkuvettä. Lisää 5 µl Tween-20-liuosta 10 ml kohti ja sekoita huolellisesti. Tarkista pH ja säädä pH-arvoon 7,0 käyttäen natriumhydroksidia tai vetykloridia tarpeen mukaan. Säilytä liuosta enintään 4 viikkoa huoneenlämpötilassa ilmatiiviissä säiliössä.

FISH-protokolla

(Huomautus: Varmista, että koettimen ja vastaväriin altistuminen laboratorioväliölle on aina rajallista.)

Objektiivilasin valmistelu

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

Esidenaturaatio

- Poista koetin pakastimesta ja anna sen lämmitä 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 solunäytteelle 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 lämmitä 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 värin 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.

Toimenpidesuosituksukset

- Objektiivilasiin sintraaminen tai ikäännyttäminen saattaa heikentää signaalin fluoresenssia
- Muiden kuin Cytozell Ltd -yhtiön toimittamien tai suosittelemien reagenssien käyttö saattaa vaikuttaa haitallisesti hybridisaatio-olosuhteisiin.
- Käytä liuosten, vesikylyjen ja inkubaattorien lämpötilojen mittaukseen kalibroitu lämpömittaria, sillä nämä lämpötilat ovat ratkaisevan tärkeitä tuotteen optimaalisen suorituskyykyyn kannalta.

- Pesupitoisuudet, pH-arvo ja lämpötilat ovat tärkeitä, sillä liiallinen löyhyys saattaa johtaa koettimen epäspesifiseen sitoutumiseen ja liiallinen ankaruus signaalin puuttumiseen.
- Epätäydellinen denaturaatio saattaa johtaa signaalin puuttumiseen ja liiallinen denaturaatio saattaa myös johtaa epäspesifiseen sitoutumiseen.
- Liiallinen hybridisaatio saattaa johtaa ylimääräisiin tai odottamattomiin signaaleihin.
- Käyttäjien on optimoitava omien näytteidensä protokolla ennen testin käyttöä.
- Suboptimaaliset olosuhteet saattavat johtaa epäspesifiseen sitoutumiseen, jotka saatetaan tulkita koetinsignaaleiksi.

Tulosten tulkitseminen

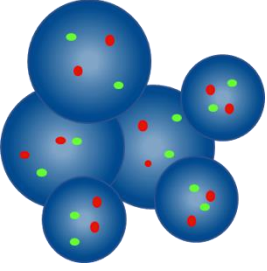
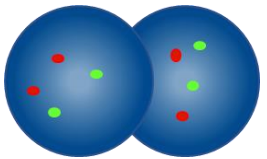
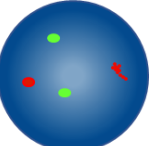
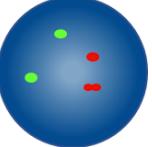
Objektiivilasin laadun arviointi

Objektiivilasia ei tarvitse analysoida, jos:

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

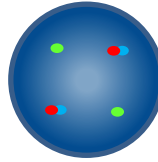
Analysointiohjeet

- Kahden analyytikon pitäisi analysoida ja tulkita jokainen näyte. Kaikki 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 tumman kohdalla. Käytä tällaisissa tapauksissa yksittäisiä suodattimia ja/tai säädä fokustasoa.
- Suboptimaalisissa olosuhteissa signaalit saattavat näyttää hajanaisilta. Jos kaksi samanväristä signaalia koskettaa toisiaan, jos niiden välinen etäisyys on enintään yhtä suuri kuin kahden signaalin leveys tai jos kahta signaalia yhdistää heikko säie, katso ne yhdeksi signaaliksi.
- Mikäli on epäilystä siitä, voidaanko solu analysoida, älä analysoi sitä.

Analysointiohjeet	
	Älä laske – tumat ovat liian lähekkäin, 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

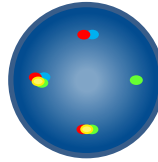
Odotettavissa olevat tulokset

Odotettavissa oleva normaali signaalikuvi

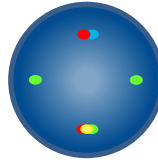


Tavallisessa solussa on odotettavissa kaksi punaista/sinistä fuusiota ja kaksi vihreää signaalia (2PS, 2V).

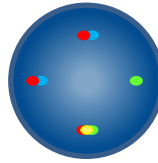
Odotettavissa oleva epänormaali signaalikuvi



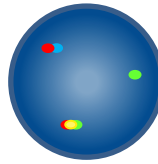
Jos solussa on t(9;22)(q34;q11)-uudelleenjärjestymä, odotettavissa on yksi punainen/vihreä/sininen fuusio, yksi punainen/sininen fuusio ja yksi vihreä signaali (1F, 1PVS, 1PS, 1V).



Jos solussa on t(9;22)(q34;q11)-uudelleenjärjestymä ja proksimaalisen 9q:n deleetio, odotettavissa on yksi punainen/vihreä fuusio, kaksi vihreää ja yksi punainen/sininen fuusio (1F, 2V, 1PS).



Jos solussa on t(9;22)(q34;q11)-uudelleenjärjestymä ja distaalinen 22q:n deleetio, odotettavissa on yksi punainen/vihreä fuusio, yksi vihreä ja kaksi punaista/sinistä fuusiota (1F, 1V, 2PS).



Jos solussa on t(9;22)(q34;q11)-uudelleenjärjestymä ja proksimaalisen 9q:n ja distaalisen 22q:n deleetio, odotettavissa on yksi punainen/vihreä fuusio, yksi vihreä ja yksi punainen/sininen fuusio (1F, 1V, 1PS).

Sininen ASS1-koetin voi erotella satunnaisen signaalin päällekkäisyyden todellisesta BCR/ABL1-fuusiosta interfaasisoluissa. Satunnainen signaalin päällekkäisyys aiheuttaisi sinisen signaalin ilmenemisen, vaikka todellinen fuusio aiheuttaisi sinisen signaalin puuttumisen.

Muut signaalikuviot ovat mahdollisia aneuploidisissa / epätasapainoisissa näytteissä.

Tunnettu ristireaktiivisuus

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

Haittatapahtumista raportointi

Jos uskot, että tässä laitteessa on ilmennyt toimintahäiriö tai että sen suorituskykyominaisuuksissa on tapahtunut huononemista, joka on saattanut myötävaikuttaa haittatapahtumaan (esim. viivästynyt tai virheellinen diagnoosi, viivästynyt tai epäasianmukainen hoito), tästä on ilmoitettava välittömästi valmistajalle (**sähköposti**: vigilance@ogt.com).

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 suorituskykyominaisuudet

Analyttinen spesifisyys

Analyttinen spesifisyys on prosenttiosuus signaaleista, jotka hybridisoituvat oikeaan lokuksen eikä muihin sijainteihin. Analyttinen spesifisyys määritettiin analysoimalla yhteensä 200 kohdelokusta. Analyttinen spesifisyys laskettiin

sellaisten FISH-signaalien määräksi, jotka hybridisoituivat oikeaan lokukseen jaettuna hybridisoituneiden FISH-signaalien kokonaisuutena.

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

Koetin	Kohdelokus	Oikeaan lokukseen hybridisoituneiden signaalien määrä	Kaikkien hybridisoituneiden signaalien kokonaisuus	Spesifisyys (%)
Punainen ABL1	9q34	182	182	100
Vihreä BCR	22q11.23	182	182	100
Sininen ASS1	9q34	182	182	100

Analyttinen herkkyys

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

Taulukko 2. BCR/ABL Plus 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
468	500	93,6	2,1

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

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

Epänormaali signaalikuvio	Youden-indeksi	Normaali raja-arvo (%)
1F, 1PVS, 1PS, 1V; 1F, 2V, 1PS; 1F, 1V, 2PS; 1F, 1V, 2PS	1,00	2

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

Tarkkuus ja uusittavuus

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

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

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

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

Muuttuja	Vakiopoitkeama (STDEV)
Tarkkuus	0,19
Näytteestä toiseen	0,19
Päivästä toiseen	0,38
Erästä toiseen	0,00
Kokonaispoitkeama	0,30

Kliininen suorituskyky

Kliininen suorituskyky määritettiin näytteestä, joka edustaa tuotteen aiottua kohdeväestöä. Kunkin näytteen kohdalla tallennettiin ≥ 100 interfaasisolun signaalikuvio. Normaali / epänormaali määrittäminen tehtiin vertaamalla sellaisen solujen prosenttiosuus, jolla oli spesifinen epänormaali signaalikuvio normaaliin

raja-arvoon verrattuna. Tuloksia verrattiin sen jälkeen näytteen tunnettuun tilaan.

Kliinisten tietojen tulokset analysoidiin herkkyyden, spesifisyyden ja raja-arvojen aikaansaamiseksi yksilötoista lähestymistapaa käyttämällä.

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

Muuttuja	Tulos
Kliininen herkkyys (oikea positiivinen aste, TPR)	96,9%
Kliininen spesifisyys (oikea negatiivinen aste, TNR)	100%
Väärä positiivinen aste (FPR) = 1 – spesifisyys	0%

Lisätietoja

Tuotteita koskevia lisätietoja on saatavilla ottamalla yhteyttä CytoCellin teknisen tuen osastoon.

Puh.: +44 (0)1223 294048










Sähköposti: techsupport@cytozell.com

Verkkosivut: www.ogt.com

Viitteet

- Swerdlow *et al.*, (eds.) WHO Classification of Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissue, Lyon, France, 4th edition, IARC, 2017
- Soupir *et al.*, Am J Clin Pathol 2007;127:642-650
- Robinson *et al.*, Leukemia 2005;19(4):564-71
- Siu *et al.*, BMC Blood Disorders 2009;9:4
- 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.

Symboliopas

REF	fi: Kuvastonumero
	fi: Lääkinnällinen laite <i>in vitro</i> -diagnostiikkaan
	fi: Eräkoodi
	fi: Tutustu käyttöohjeisiin
	fi: Valmistaja
	fi: Käytön eräpäivä
	fi: Lämpötilaraja
	fi: Pidettävä poissa auringonvalosta
	fi: Riittävä sisältö <n> testiin
	fi: Sisältö

Patentit ja tavaramerkit

CytoCell on CytoCell 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