



A Sysmex Group Company



Käyttöohje

VIITE: CE-LPH 013-S / CE-LPH 013

MLL (KMT2A) Breakapart Probe



VAIN AMMATTIKÄYTTÖÖN



Lisätietoja ja muita kieliä saatavilla osoitteesta ogt.com/IFU

Käyttötarkoitus

CytoCell® MLL (KMT2A) Breakapart Probe irrotettava koetin on kvalitatiivinen, ei-automatisoitu FISH (fluorescence *in situ* hybridisation) -testi, jota käytetään kromosomien uudelleenjärjestymien havaitsemiseen kromosomin 11 alueella 11q23.3 Carnoy'n liuokseen (3:1 metanoli/etikkahappo) fiksoiduille, hematologisesti johdetuille solususpensioille potilaita, joilla on vahvistettu tai epäilty akuutti myeloinen leukemia (AML), myelodysplastinen oireyhtymä (MDS) tai akuutti lymfoblastinen leukemia (ALL).

Käyttöaiheet

Tämä laite on suunniteltu käytettäväksi muiden kliinisten ja histopatologisten testien lisäksi vakiintuneissa diagnostiikan ja kliinisen hoidon hoitopoluissa, joissa MLL (KMT2A) -uudelleenjärjestymän tilan tunteminen olisi tärkeää kliiniselle hoidolle.

Rajoitukset

Laite on suunniteltu havaitsemaan uudelleenjärjestelyjä, joissa on katkoskohtia tämän koetinsarjan punaisten ja vihreiden kloonien sitomilla alueilla, joihin sisältyy MLL (KMT2A) -geeni. Tämä laite ei ehkä havaitse kyseisen alueen ulkopuolisia katkoskohtia tai vaihtoehtoisia uudelleenjärjestymiä, jotka sisältyvät kokonaisuudessaan tälle alueelle.

Tätä laitetta ei ole tarkoitettu käytettäväksi riippumattomaan diagnostiikkaan, kytkösdiaagnostiikkaan, raskausajan tutkimuksiin, väestöpohjaiseen seulontaan, veritesteistukseen 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 laboratoriokäyttöön.

Mikäli protokollaa ei noudateta, se saattaa vaikuttaa suorituskykyyn ja johtaa virheellisiin positiivisiin/negatiivisiin tuloksiin.

Testin periaatteet

Fluoresenssi *in situ* -hybridisaatio (FISH) on tekniikka, jonka avulla DNA-sekvenssejä voidaan havaita metafaasikromosomeista tai fiksoidujen 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 aikaan, hematologiseen ja kiinteiden tumorien kromosomianalyysiin. Kohde-DNA on fiksaation ja denaturaation jälkeen saatavilla palautumiseksi samalla tavoin denaturoitua, fluoresenssimerkittyä 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

KMT2A (lysiinimetyyli transferaasi 2A) -geeni paikassa 11q23.3 on yleensä uudelleenjärjestynyt akuuteissa leukemiassa, etenkin pikkulasten leukemiassa ja sekundaarisessa leukemiassa, DNA-topoisomeraasi II:n inhibiittorilla tehdyn hoidon jälkeen¹.

KMT2A-geenillä on huomattava homologia drosophila trithorax -geenin kanssa, ja se koodittaa histonimetyyli transferaasia, joka toimii transkription epigeneettisenä säätelijänä. KMT2A-translokaatioista syntyy kimeerinen proteiini, jossa KMT2A:n aminoterminaalinen osa on fuusioitunut fuusiopartnerigeenin karboksinterminaaliseen osioon. Funktionaalisella proteiinilla on merkittävä tehtävä sikiönkehityksessä ja hematopoiesissa^{1,2,3,4}.

KMT2A-uudelleenjärjestelyjä on havaittavissa noin 80 prosentilla pikkulapsista, joilla on akuutti lymfoblastinen leukemia (ALL), ja 5–10 prosentilla lapsi- ja aikuispotilaista, joilla on ALL^{3,4}. Niitä on myös 60 prosentissa pikkulasten akuutteja myelooisia leukemioita (AML), 3 prosentissa de novo -tapauksia sekä 10 prosentissa hoitoon liittyvistä aikuisten AML-tapauksista^{3,5}. Tähän päivään mennessä on tunnistettu yli 70 partneria, joissa yleisimmät translokaatiot ovat MLL::AFF1; t(4;11)(q21;q23.3), MLL::MLLT4; t(6;11)(q27;q23.3), MLL::MLLT3; t(9;11)(p22;q23.3) ja MLL::MLLT1; t(11;19)(q23.3;p13.3)¹.

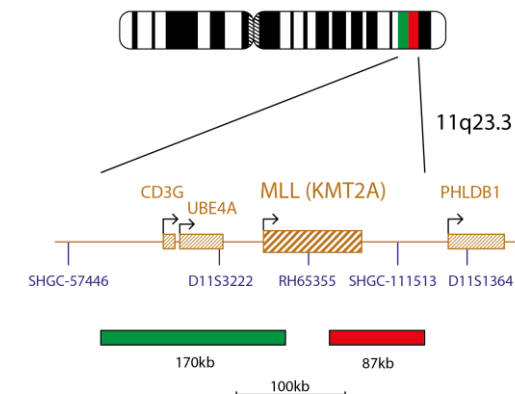
Historiallisesti KMT2A-uudelleenjärjestymät akuuteissa leukemiassa liittyivät huonompiin hoitotuloksiin, mutta viimeaikaisissa tutkimuksissa on todettu, että ennuste riippuu vahvasti fuusiopartnerista ja siihen saattaa myös vaikuttaa se, onko potilas lapsi vai aikuinen¹.

Koettimen tekniset tiedot

MLL, 11q23.3, punainen

MLL, 11q23.3, vihreä

CMP-H036 v006.00



MLL-tuote sisältää 87 kb:n koettimen, leimattu punaisella, joka kattaa MLL (KMT2A) -geenin telomeerisen alueen, sekä SHGC-111513-markkerin ja vihreän koettimen, joka kattaa 170 kb:n alueen MLL-geenin sentromeerisellä alueella, sisältäen CD3G- ja UBE4A-geenin.

Toimitettavat materiaalit

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

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

Vastaväri: 150 µl pulloa kohti (15 testiä).

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

Varoitukset ja varotoimet

1. *In vitro* -diagnostiseen käyttöön. Vain ammattikäyttöön laboratoriossa.
2. Koetinseokset sisältävät formamidia, joka on teratogeeni: älä hengitä höyryä sisään tai päästä ainetta kosketuksiin ihon kanssa. Käsiteltävä varoen: käytä käsineitä ja laboratoriotakkia.
3. Käsittele DAPIa varoen: käytä käsineitä ja laboratoriotakkia.
4. Ei saa käyttää, jos pullo on vaurioitunut tai jos pullon sisältö on voinut vahingoittua millään tavalla.
5. Hävitä tämä tuote turvallisesti noudattaen hävittämistä koskevia paikallisia määräyksiä ja käyttöturvallisuustiedotteessa annettuja suosituksia. Tämä koskee myös vahingoittunutta testisarjan sisältöä.
6. Hävitä kaikki käyttämätön reagenssi ja muu kontaminoitunut kertakäyttömateriaali tartuntavaarallista tai mahdollisesti tartuntavaarallista jätettä koskevien ohjeistusten mukaisesti. Kunkin laboratorion vastuulla on käsitellä kiinteää ja nestemäistä jätettä sen luonteen ja vaarallisuusasteen mukaisesti ja noudattaa sen käsittelyssä ja hävittämisessä sovellettavia määräyksiä (tai varmistaa niiden noudattaminen).
7. Käyttäjien on pystyttävä erottamaan toisistaan punainen, sininen ja vihreä.
8. Mikäli hahmoteltua protokollaa ei noudateta ja sen mukaisia reagensseja ei käytetä, se saattaa vaikuttaa suorituskykyyn ja johtaa virheellisiin positiivisiin/negatiivisiin tuloksiin.

9. Koetinta ei saa laimentaa tai sekoittaa muiden koetinten kanssa.
10. Mikäli 10 µl:n koetinta ei käytetä protokollan esidenaturaatiovaiheessa, se saattaa vaikuttaa suorituskykyyn ja johtaa virheellisiin positiivisiin/negatiivisiin tuloksiin.
11. 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. Vesikylypy 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 muovista, keramiikkaa tai lämmönkestävää lasia
 8. Pihdit
 9. Kalibroitu pH-mittari (tai pH-indikaattoriliuskat, joilla voidaan mitata 6,5–8,0:n pH-arvo)
 10. Kostutettu säiliö
 11. Fluoresenssiluokan mikroskooppilinnin immersioöljy
 12. Työpöytäsentrifugi
 13. Mikroskooppiobjektilasi
 14. 24 x 24 mm:n peitelasi
 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 elohopealampua 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 fluoresenssimikroskoopille ja jonka koostumus on tarkoitettu alhaiselle automaattiselle fluoresenssille. Vältä häipymistä ehkäisevän DAPIn sekoittamista mikroskoopin immersioöljyn kanssa,

sillä se hämärtää signaaleita. Noudata valmistajien suosituksia lampun käyttöiän ja suodatinten iän suhteen.

Näytteen valmistelu

Sarja on suunniteltu käytettäväksi Carnoy'n liuokseen (3:1 metanoli/etikkahappo) fiksoituihin, hematologisesti johdettuihin solususpensioihin, jotka on otettu potilailta, joilla on vahvistettu tai epäilty akuutti myeloinen leukemia (AML), myelodysplastinen oireyhtymä (MDS) tai akuutti lymfoblastinen leukemia (ALL), ja valmisteltu laboratorion tai laitoksen suuntaviivojen mukaisesti. Valmistele ilmakuvitut näytteet mikroskoopin objektiivilaseille sytogeneettisten vakioitoimenpiteiden mukaisesti. AGT-sytogenetiikkalaboratorion opaskirja sisältää suosituksia näytteen keräämisestä, viljelystä, poiminnasta ja objektiivilasiin valmistelusta⁶.

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 mikroskooppiobjektilasille. Anna kuivua. (Valinnaista, jos käytetään sytogeneettistä kuivauskammiota: Kammiota on käytettävä noin 25 °C:n lämpötilassa ja 50 %:n kosteudessa, jotta solunäytepisara voidaan asettaa optimaalisesti lasille. Mikäli sytogeneettistä kuivauskammiota ei ole saatavilla, käytä vaihtoehtoisesti vetokaappia).
2. Upota objektiivilasi 2 x SSC-liuokseen 2 minuutiksi huoneenlämpötilassa ravistamatta.
3. Kuivaa kutakin etanolisarjassa (70 %, 85 % ja 100 %) 2 minuuttia huoneenlämpötilassa.
4. Anna kuivua.

Esidenaturaatio

5. Poista koetin pakastimesta ja anna sen lämmetä huoneenlämpötilaan. Sentrifugoi putkia lyhyen aikaa ennen käyttöä.
6. Varmista, että koetinliuos on sekoitettu yhtenäisesti pipetillä.
7. Poista 10 µl koetinta testiä kohti ja siirrä se mikrosentrifugiputkeen. Palauta jäljelle jäänyt koetin nopeasti pakastimeen.
8. Aseta koetin ja näyteobjektiivilasi esilämpimään 37 °C:n (+/- 1 °C) lämpölevylle 5 minuutiksi.
9. Laita 10 µl koetinseosta solunäytteelle ja aseta peitelasi varoen paikalleen. Sulje kumiliuosliimalla ja anna liiman kuivua täysin.

Denaturaatio

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

Hybridisaatio

11. Laita objektiivilasi yöksi kosteaan valonkestävään säiliöön 37 °C:n (+/- 1 °C) lämpötilaan.

Hybridisaation jälkeiset pesut

12. Poista DAPI pakastimesta ja anna sen lämmetä huoneenlämpötilaan.
13. Poista peitelasi ja kaikki liimajäljet huolellisesti.
14. Upota objektiivilasi 0,4 x SSC-liuokseen (pH 7,0) 2 minuutiksi 72 °C:n (+/- 1 °C) lämpötilassa ravistamatta.
15. Tyhjennä objektiivilasi ja upota se 30 sekunniksi 2 x SSC-liuokseen ja 0,05 % Tween-20-liuokseen huoneenlämpötilassa (pH 7,0) ravistamatta.
16. Tyhjennä objektiivilasi ja laita kuhunkin näytteeseen 10 µl häipymistä ehkäisevää DAPIa.
17. Peitä peitelasilla, poista mahdolliset kuplat ja anna värin kehittyä pimeässä 10 minuuttia.
18. Tarkastele fluoresenssimikroskoopilla (katso **Fluoresenssimikroskooppisuositus**).

Toimenpidesuosituks

1. Objektiivilasin sintraaminen tai ikäännyttäminen saattaa heikentää signaalien fluoresenssia.
2. Muiden kuin Cytocell Ltd -yhtiön toimittamien tai suosittelemien reagenssien käyttö saattaa vaikuttaa haitallisesti hybridisaatio-olosuhteisiin.

- Käytä liuosten, vesikylpyjen ja inkubaattorien lämpötilojen mittaukseen kalibroitua lämpömittaria, sillä nämä lämpötilat ovat ratkaisevan tärkeitä tuotteen optimaalisen suorituskyvyn 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 diagnostiisiin tarkoituksiin.
- Suboptimaaliset olosuhteet saattavat johtaa epäspesifiseen sitoutumiseen, jotka saatetaan tulkita koetinsignaaleiksi.

Tulosten tulkitseminen

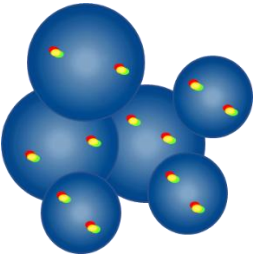
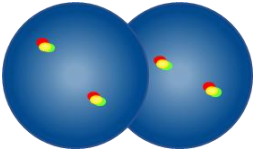
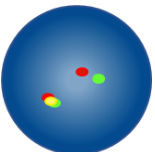
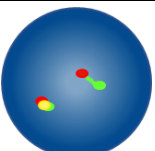
Objektiivilasin laadun arviointi

Objektiivilasia ei tarvitse analysoida, jos:

- yksittäisten suodatinten signaalit ovat liian heikkoja analysoitavaksi – jotta analyysia voidaan jatkaa, signaalien on näytävä kirkkaina, 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.

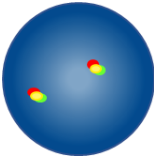
Analysointiohjeet

- Kahden analyytikon pitäisi analysoida ja tulkita jokainen näyte. Kaikki eriävyudet 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 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.
- Analysoidaessa kaksivärisiä irrotettavia koettimia signaalit on laskettava muiksi kuin uudelleenjärjestellyiksi/fuusioituneiksi, jos punaisen ja vihreän signaalin välinen rako on enintään kahden signaalileveyden kokoinen.
- 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 fuusiosignaalksi – punaisen ja vihreän signaalin välinen rako on enintään kahden signaalileveyden kokoinen
	Laske kahdeksi fuusiosignaalksi – yksi fuusiosignaali on hajanainen

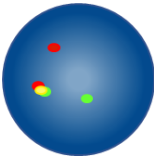
Odotettavissa olevat tulokset

Odotettavissa oleva normaali signaalkuvio



Tavallisessa solussa odotettavissa on kaksi punaista/vihreää fuusiosignaalia (2F).

Odotettavissa oleva epänormaali signaalkuvio



Jos solussa on balansoitunut MLL (KMT2A) -uudelleenjärjestymä, odotettavissa oleva signaalkuvio on yksi punainen, yksi vihreä ja yksi punainen/vihreä fuusio (1F1P1V).

Muut signaalkuviot 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@ogt.com

Luettelo vaaratilanteista käsittelevien EU:n kansallisten toimivaltaisten viranomaisten yhteystiedoista on seuraavassa osoitteessa:

https://health.ec.europa.eu/medical-devices-sector/new-regulations/contacts_en

Erityiset suorituskykyominaisuudet

Analyttinen spesifisyys

Analyttinen spesifisyys on prosenttiosuus signaaleista, jotka hybridisoidaan oikeaan lokukseen eikä muihin sijainteihin. Analyttinen spesifisyys määritettiin analysoimalla yhteensä 200 kohdelokusta. Kaksi kromosomin lokusta jokaisessa 20 metafaasisolussa analysoidiin viidestä näytteestä, jolloin saatiin 200 tietopistettä. Analyttinen spesifisyys laskettiin sellaisten FISH-signaalien määräksi, jotka hybridisoituivat oikeaan lokukseen jaettuna hybridisoituneiden FISH-signaalien kokonaismäärällä.

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

Taulukko 1. MLL (KMT2A) Breakapart Probe irrotettavan koettimen analyttinen spesifisyys

Koetin	Kohde	Hybridisoituneiden metafaasikromosomien lukumäärä	Oikein hybridisoituneiden lokusten lukumäärä	Analyttinen spesifisyys (%)	95 %:n luottamusväli (%)
MLL distaali, punainen	11q23.3	200	200	100	98,12–100
MLL proksimaali, vihreä	11q23.3	200	200	100	98,12–100

Analyttinen herkkyys

Analyttinen herkkyys on niiden tulosten laskennassa käytettävien interfaasisolujen prosenttiosuus, joiden odotettavissa oleva signaalikuvio on normaali. Vähintään 200 interfaasisolua analysoidiin jokaisesta 25 luuydinsolususpensiosta, jotka oli fiksoitu Carnoy'n liuokseen ja katsottu karyotyypittään normaaleiksi, jolloin saatiin vähintään 5000 tumaa näytetyypin kohden. Herkkyystiedot analysoidiin niiden solujen prosentimäärän perusteella, jotka osoittivat normaalia odotettavissa olevaa signaalikuvioita, ja tulos ilmaistaan prosenttiosuudella sekä 95 prosentin luottamusväillä.

Taulukko 2. MLL (KMT2A) Breakapart Probe irrotettavan koettimen analyttinen herkkyys

Sellaisten solujen määrä, joilla on odotettavissa olevat signaalikuviot	Sellaisten solujen kokonaismäärä, joilla on tulosten laskennassa käytettävät signaalit	Analyttinen herkkyys (%)	95 %:n luottamusväli (%)
4965	5000	99,3	99,08–99,52

Normaalien raja-arvojen luokittelu

Normaali raja-arvo on yhdessä FISH-koetinten kanssa maksimiprosenttiosuus tulosten laskennassa käytettävistä interfaasisoluista, joilla on spesifinen epänormaali signaalikuvio, jonka kohdalla näyte katsotaan normaaliksi kyseisen signaalikuvion osalta.

Normaali raja-arvo määritettiin uudelleenjärjestymälle negatiivisista näytteistä, joita koetin on tarkoitettu tunnistamaan, ja käyttäen käänteistä beetafunktiota. Kaksi analytiikkaa kirjasi toisistaan riippumatta 100 interfaasituman signaalikuviot, yhteensä 200 näytettä kohden.

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

Taulukko 3. MLL (KMT2A) Breakapart Probe irrotettavan koettimen normaalien raja-arvojen luokittelu

Epänormaali signaalikuvio	Raja-arvon määrittämisessä analysoidujen näytteiden lukumäärä	Näytettä kohden analysoidujen tumien lukumäärä	Väärin positiivisten signaalikuvioiden suurin lukumäärä	Normaali raja-arvo (%)
1P1V1F	1600	200	3	3,8

Laboratorioiden on tarkistettava raja-arvot käyttäen omia tietojaan.^{7,8}

Uusittavuus

Uusittavuustutkimuksilla selvitetiin

- kolmen kohteen päivän sisäinen uusittavuus (näytteestä toiseen)
- kolmen kohteen päivien välinen uusittavuus (päivästä toiseen)
- kolmen kohteen kohteiden välinen uusittavuus (kohteesta toiseen)
- yhden kohteen erien välinen uusittavuus (erästä toiseen).

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 muuttujien yhtäpitävyyttä.

Taulukko 4. MLL (KMT2A) Breakapart Probe irrotettavan koettimen uusittavuus

Uusittavuustutkimus	Näyte	Yhtäpitävyys (%)
Päivän sisäinen / päivien välinen / kohteiden välinen	90 %:n yhtäpitävyyden negatiivinen luokka	100 %
	95 %:n yhtäpitävyyden vahvasti positiivinen luokka	100 %
Erien välinen	90 %:n yhtäpitävyyden negatiivinen luokka	100 %
	95 %:n yhtäpitävyyden vahvasti positiivinen luokka	100 %

Kliininen suorituskyyky

Sen määrittämiseksi, havaitseeko tuote aiottuja uudelleenjärjestymiä, kliininen suorituskyyky määritettiin kolmella retrospektiivisellä tutkimuksella, jotka suoritettiin ulkoisissa testipaikoissa. Tutkimusten kaikkien kohteiden yhdistetyn otannan koko oli neljäsatakahdeksankymmentäkahdeksan (488) näytettä, joista kahdeksantoista (18) oli positiivisia ja neljäsataaseitsemänkymmentä (470) negatiivisia näytteitä. Kunkin näytteen positiivisuuden tila vahvistettiin joko kilpailevan myyjän kaupallisesti markkinoimalla vertailukoettimella, joka tunnistaa samat poikkeamat kuin arvioitavat koettimet, tai vertaamalla G-raita- ja karyotyypin.

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

Taulukko 5. MLL (KMT2A) Breakapart Probe irrotettavan koettimen kliininen suorituskyyky

Muuttuja	Tulos
Kliininen herkkyys (oikeiden positiivisten osuus, TPR)	99,93 %
Kliininen spesifisyys (oikeiden negatiivisten osuus, TNR)	99,97 %
Väärin positiivisten osuus (FPR) = 1 – spesifisyys	0,03 %

Yhteenveto turvallisuudesta ja suorituskyyvystä (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: 50558449LPH013J8

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

Lisätietoja

Tuotteita koskevia lisätietoja on saatavilla ottamalla yhteyttä CytoCell teknisen tuen osastoon.3-site Inter
Puh.: +44 (0)1223 294048
Sähköposti: techsupport@cytozell.com
Verkkosivut: www.ogt.com

Viitteet

1. Tamai, Inokuchi, J Clin Exp Hematopathol 2010;50(2):91-98
2. Wright, Vaughan, Critical Reviews in Oncology/Hematology 2014;91(3):283-291
3. Van der Burg et al., Leukemia 2004;18(5):895-908
4. Tomizawa, Pediatr Int 2015;57(8):811-819
5. Grossman et al., Leukemia 28 March 2013; doi:10.1038/leu.2013.90
6. Arsham, MS., Barch, MJ. and Lawce HJ. (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.

Symbolisanasto

EN ISO 15223-1:2021 – ”Lääkinnälliset laitteet – Valmistajan toimittamissa tiedoissa käytettävät symbolit. Osa 1: Yleiset vaatimukset” (© International Organization for Standardization)		
Symboli	Nimike	Viitenumero(t)
	fi: Valmistaja	5.1.1
	fi: Valtuutettu edustaja Euroopan yhteisön / Euroopan unionin alueella	5.1.2
	fi: Käytön eräpäivä	5.1.4
	fi: Eräkoodi	5.1.5
	fi: Kuvastonumero	5.1.6
	fi: Pidettävä poissa auringonvalosta	5.3.2
	fi: Lämpötilaraja	5.3.7
	fi: Tutustu käyttöohjeisiin	5.4.3
 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)	—

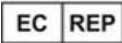
Patentit ja tavaramerkit

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
Verkkosivut: www.ogt.com



Sysmex Europe SE
Bornbarch 1
22848 Norderstedt
SAKSA

Puh.: +49 40 527260
Verkkosivut: 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.