



A Sysmex Group Company



## Käyttöohje

REF: LPH012-S / LPH012 / LPH012-20

## TEL/AML1 (ETV6/RUNX1) Translocation, Dual Fusion Probe -koetin



VAIN AMMATTIKÄYTTÖÖN



www.cytocell.com

Lisätietoja ja muita kieliä saatavilla osoitteesta [www.cytocell.com](http://www.cytocell.com)

### Rajoitukset

Laite on suunniteltu havaitsemaan uudelleenjärjestymiä, joissa on katkoskohtia koetinrjan punaisten ja vihreiden kloonien kattamilla alueilla, joihin sisältyvät TEL (ETV6)- ja AML1 (RUNX1) -alueet. Tämä tuote ei ehkä havaitse kyseisen alueen ulkopuolisia katkoskohtia tai vaihtoehtoisia uudelleenjärjestymiä, jotka sisältyvät kokonaisuudessaan tälle alueelle.

Testiä ei ole tarkoitettu käytettäväksi riippumattomaan diagnostiikkaan, raskausajan tutkimuksiin, väestöpohjaiseen seulontaan, vieritestaukseen tai itsetestaukseen. Tämä tuote on tarkoitettu ainoastaan ammattimaiseen laboratoriokäyttöön; soveltuvan pätevyyden saaneen henkilöstön on tulkittava kaikki tulokset ottaen huomioon muut asiaankuuluvat testitulokset.

Tätä tuotetta ei ole validoitu käytettäväksi sellaisen näyte- tai tautityypin kohdalla, joita ei ole määritetty aiotussa käyttötarkoituksessa.

FISH-tulosten raportoinnin ja tulkinnan on oltava yhdenmukainen ammattimaisten käytäntöstandardien kanssa, ja niissä on otettava huomioon muut kliiniset ja diagnostiset tiedot. Sarja on tarkoitettu muiden diagnostisten laboratoriostien 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® Aquarius TEL/AML1 (ETV6/RUNX1) Translocation, Dual Fusion Probe -koetin on kvalitatiivinen, ei-automatisoitu FISH (fluorescence *in situ* hybridisation) -testi, jota käytetään kromosomien uudelleenjärjestymien havaitsemiseen kromosomin 12 alueen 12p13.2 ja kromosomin 21 alueen 21q22.1 välillä Carnoy'n liuokseen (3:1 metanoli/etikkahappo) fiksatoituille, hematologisesti johdetuille solususpensioille potilailta, joilla on vahvistettu tai epäilty akuutti lymfaattinen leukemia (ALL).

### Käyttöaiheet

Tämä tuote on suunniteltu käytettäväksi muiden kliinisten ja histopatologisten testien lisäksi vakiintuneissa diagnostiikan ja kliinisen hoidon hoitopoluissa, joissa TEL-AML1 (ETV6-RUNX1) -translokaation tilan tunteminen olisi tärkeää kliiniselle hoidolle.

### 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 kokonaisia kromosomeja tai yksittäisiä, ainutkertaisia sekvenssejä ja jotka toimivat tehokkaana sytogeneettisen G-raita-analyysin apuvälineenä. Tätä tekniikkaa voidaan nyt käyttää olennaisena tutkimustyökaluna raskauden aikaiseen, hematologiseen ja kiinteiden tuumorien kromosomianalyysiin. Kohde-DNA on fiksaation ja denaturaation jälkeen saatavilla palautumiseksi samalla tavoin denaturoituun, fluoresenssimerkittyyn DNA-koettimeen, jolla on täydentävä sekvenssi. Hybridisaation jälkeen sitomaton ja muu kuin spesifisesti sidottu DNA-koetin poistetaan, ja DNA vastavärvätään visualisointia varten. Sen jälkeen hybridisoitu koetin voidaan visualisoida fluoresenssimikroskopian avulla kohdemateriaalissa.

### Koettimen tiedot

Sytogeneettisesti kryptinen t(12;21)(p13;q22) translokaatio ETV6:n (ets-variantti 6) paikassa 12p13 ja RUNX1:n (RUNX-perheen transkriptiotekijä 1) välillä paikassa 21q22 aiheuttaa kimeerisen ETV6-RUNX1-fuusiogeenin<sup>1</sup>.

ETV6- ja RUNX1-geenit molemmat koodittavat transkriptiotekijöitä; ETV6-geeniä on osoitettu tarvittavan oikeaan transkriptioon luuytimessä tapahtuvan hematopoieesin aikana<sup>1,2</sup>. ETV6-RUNX1-proteiini muuntaa RUNX1:n transkriptiorepressoriksi, mikä aiheuttaa erytropoietinireseptorin (EPOR) yliekspression ja alavirran puoleisen JAK-STAT-signaaloinnin aktivoitumisen<sup>1</sup>.

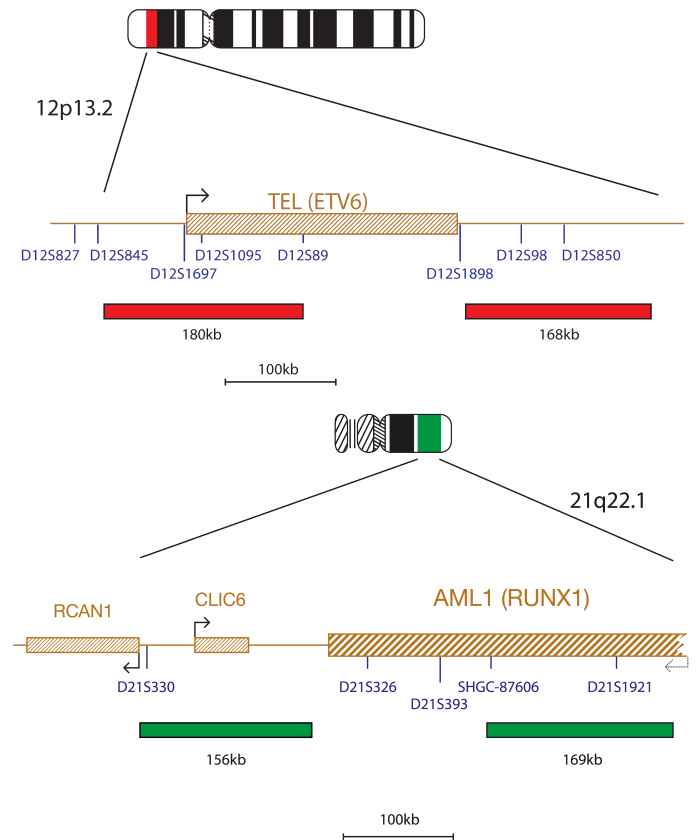
B-solujen lymfaattiset leukemiat/lymfoomat, joissa on t(12;21)(p13;q22) translokaatioita, muodostavat tunnistetun tautikokonaisuuden Maailman terveysjärjestön (WHO) myeloisten neoplasmien ja akuuttien leukemioiden luokituksen mukaisesti. Tämä on yleisin lapsuusiän B-ALL-tapausten aliryhmä, johon lukeutuu noin 25 prosenttia tapauksista<sup>3</sup>. Koska translokaatio t(12;21)(p13;q22) on sytogeneettisesti kryptinen, FISH on tärkeä diagnostiikkatyökalu tässä leukemiassa<sup>4</sup>.

B-ALL-tapausten, joihin liittyy ETV6-RUNX1, ennusteita pidetään suotuisina, ja paranemisprosentti on yli 90 prosenttia 3. Myöhäisiä uusiutumisia on raportoitu. Ne on yhdistetty persistentteihin preleukemisiin klooneihin, jotka ovat selvinneet kemoterapiasta<sup>3,5</sup>.

ETV6:n deleetioita on havaittu joillakin ALL-lapsilla, ja heterotsygoottisuuden puuttumista (LOH) kromosomissa 12p12-13; näitä deleetioita havaitaan usein ETV6-RUNX1-translokaatioiden yhteydessä<sup>6</sup>.

### Koettimen tekniset tiedot

TEL, 12p13.2, punainen  
AML1, 21q22.12, vihreä



TEL-koetinseos, leimattu punaisella, sisältää koettimen, joka kattaa 180 kb:n alueen markkerien D12S845 ja D12S89 välillä sekä toisen koettimen, joka sitoutuu TEL (ETV6) -geenin sentromeeriseen puoleen ja ulottuu 168 kb markkerista D12S1898. AML1:lle on kaksi koettinta, jotka on leimattu vihreällä. Yksi kattaa 156 kb:n alueen AML1 (RUNX1) -geenin sentromeerisellä alueella, mukaan lukien CLIC6-geeni, ja toinen koetin kattaa 169 kb:n alueen, mukaan lukien markkerit D21S1895 ja D21S1921.

### Toimitettavat materiaalit

**Koetin:** 50 µl pulloa kohti (5 testiä), 100 µl pulloa kohti (10 testiä) tai 200 µl pulloa kohti (20 testiä)

Koettimet toimitetaan ennalta sekoitettuna hybridisaatioliuokseen (formamidi, dekstraanisulfaatti, suolaliuos-natriumsitraatti (SSC)), ja ne ovat valmiita käytettäväksi.

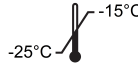
**Vastaväri:** 150 µl pulloa kohti (15 testiä) tai 500 µl pulloa kohti (50 testiä)

Vastaväri on DAPI häipymistä ehkäisevä (ES: 0,125 µg/ml DAPI (4,6-diamidino-2-fenyylindoli)).

## Varoitukset ja varotoimet

1. Tarkoitettu *in vitro* -diagnostiikkakäyttöön. Vain ammattikäyttöön.
2. Käytä käsitteitä käsitellessäsi DNA-koettimia ja DAPI-vastaväriä.
3. Anturiseokset sisältävät formamidiä, joka on teratogeeni: älä hengitä höyryjä sisään tai päästä ainetta kosketuksiin ihon kanssa. Käytä käsitteitä, laboratoriotakkia ja käsittele vetokaapissa. Huuhtelee suurella määrällä vettä hävittämisen yhteydessä.
4. DAPI on potentiaalinen karsinogeeni. Käsiteltävä varoen: käytä käsitteitä 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.
7. Mikäli hahmoteltua protokollaa ei noudateta ja sen mukaisia reagensseja ei käytetä, se saattaa vaikuttaa suorituskykyyn ja johtaa virheellisiin positiivisiin/negatiivisiin tuloksiin.
8. Koetinta ei saa laimentaa tai sekoittaa muiden anturien kanssa.
9. Mikäli 10 µl:n koetinta ei käytetä protokollan esidenaturaatiovaiheessa, se saattaa vaikuttaa suorituskykyyn ja johtaa virheellisiin positiivisiin/negatiivisiin tuloksiin.

## Säilytys ja käsittely

 Aquarius®-sarjaa on säilytettävä pakastimessa -25 °C ... -15 °C:n lämpötilassa sarjan etiketissä ilmoitettuun eräpäivään saakka Koetinta ja vastaväripulloja on säilytettävä pimeässä.



Koetin pysyy vakaana normaalissa käytössä ilmenevien pakastus- ja sulatusjaksojen ajan (jolloin yhden jakson aikana koetin poistetaan pakastimesta ja laitetaan takaisin pakastimeen), ja se on fotostabiili jopa 48 tuntia altistuttuaan jatkuville valaistusolosuhteille. On ryhdyttävä kaikkiin mahdollisiin toimenpiteisiin valolle ja lämpötilan muutoksille altistumisen rajoittamiseksi.

## Laitteisto ja materiaalit Tarvitvat mutta pakkaukseen sisällyttämättömät

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. Vesikyky tarkalla lämpötilan hallinnalla 37 °C:n ja 72 °C:n lämpötilassa
4. Mikrosentrifugiletkut (0,5 ml)
5. Fluoresenssimikroskoopi (katso Fluoresenssimikroskooppisuositus-osio)
6. Vaihekontrastimikroskoopi
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 mikroskooppilinnin immersioöljy
12. Työpöytäseentrifugi
13. Mikroskooppiobjektilasi
14. 24 x24 mm:n peitelasit
15. Ajastin
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

## Tarvitvat 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 öljyimmersion suunnitelman 60/63x- tai 100x-apokromaattiohjelmia parhaaseen mahdolliseen visualisointiin. Tässä koetinsarjassa käytettävät loisteaineet virittyvät ja säteilevät seuraavilla aaltopituuksilla:

Loisteaine	Viritysmaks [nm]	Emissiomaks [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 fluoresenssimikroskoopi 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 käyttöä ja suodatinten iän suhteen.

## Näytteen valmistelu

Sarja on suunniteltu käytettäväksi hematologisesti johdettuihin solususpensioihin, jotka on fiksatoitu Carnoyn liuosfiksatiiviin (3:1 metanoli/etikahappo), jotka on valmistettu laboratorion tai laitoksen suuntaviivojen mukaisesti. Valmistele ilmakuivatut näytteet mikroskoopin objektiivilaseille sytogeneettisten vakioimenpiteiden mukaisesti. AGT-sytogeneetikallaboratorion opaskirja sisältää suosituksia näytteen keräämisestä, viljelystä, poiminnasta ja objektiivilasiin valmistelusta<sup>9</sup>.

## Liuksen valmistus

### Etanoliliuos

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 laboratoriovaiolle on aina rajallista).

### Objektiivilasin valmistelu

1. Laita pisara solunäytettä mikroskooppiobjektilasille. Anna kuivua. **(Vaihtoehtoisesti, jos käytetään sytogeneettistä kuivauskammioita:** mikroskooppiobjektilaseille on asetettava pisara näytettä sytogeneettisen kuivauskammion avulla. 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 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. Uputa 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.**)

### Valmiiden objektiivilasiin vakaus

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

## Toimenpidesuosituks

1. Objektiiviliasin 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, vesikylypyjen ja inkubaattorien lämpötilojen mittaukseen kalibroitua lämpömittaria, sillä nämä lämpötilat ovat ratkaisevan tärkeitä tuotteen optimaalisen suorituskyvyn 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.
8. Suboptimaaliset olosuhteet saattavat johtaa epäspesifiseen sitoutumiseen, jotka saatetaan tulkita koetinsignaaleiksi.

## Tulosten tulkitseminen

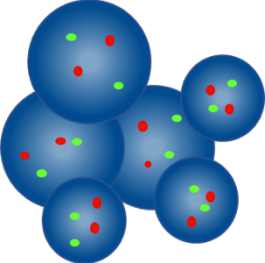
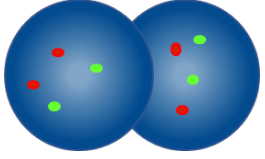
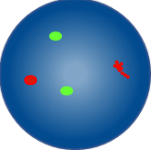
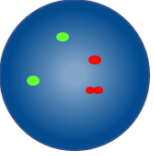
### Objektiiviliasin laadun arviointi

Objektiiviliasia ei tarvitse analysoida, jos:

- Yksittäisten signaalien 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 objektiiviliasissa taustan pitäisi näkyä tummana tai mustana ja puhtaana
- Solun tuman rajoja ei voida erottaa, eivätkä ne ole eheitä

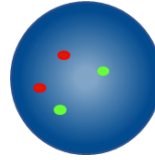
### Analysointiohjeet

- Kahden analyytikon pitäisi analysoida ja tulkita jokainen näyte. Kaikki eriytyvät 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 objektiiviliasin 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.
- 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 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 signaali-levyettä

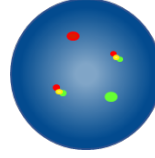
## Odotettavissa olevat tulokset

### Odotettavissa oleva normaali signaalikuvio



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

### Odotettavissa oleva epänormaali signaalikuvio



Solussa, jossa on translokaatio t(12;21)(p13.2;q22.1), odotettavissa oleva signaalikuvio on yksi punainen, yksi vihreä ja kaksi fuusiota (1P, 1V, 2F).

Muut signaalikuviot ovat mahdollisia aneuploidisissa / epätasapainoisissa näytteissä.

### Tunnettu ristireaktiivisuus

Ei tunnettua ristireaktiivisuutta.

### Haittatapahtumista raportoiminen

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

Soveltuvien osien tapahtumasta on ilmoitettava myös kansallisille toimivaltaisille viranomaisille. Luettelo vaaratilanteiden yhteystiedoista on seuraavassa osoitteessa: <http://ec.europa.eu/growth/sectors/medical-devices/contacts/>.

### Erityiset suorituskyvyminimukset

#### Analyttinen spesifisyys

Analyttinen spesifisyys on prosenttiosuus signaaleista, jotka hybridisoidaan oikeaan lokukseen 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 kokonaismäärällä.

Taulukko 1. TEL/AML1 Translocation. Dual Fusion Probe -koettimen analyttinen spesifisyys

Koetin	Kohdelokus	Oikeaan lokukseen hybridisoituneiden signaalien määrä	Kaikkien hybridisoituneiden signaalien kokonaismäärä	Spesifisyys (%)
Punainen TEL	12p13.2	200	200	100
Vihreä AML1	21q22.12	200	200	100

#### Analyttinen herkkyys

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

Taulukko 2. TEL/AML1 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
475	499	95,0	1,6

#### 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 signaalikuviot. Youden-indeksi laskettiin sellaisen kynnyksarvon löytämiseksi, jonka herkkyys + spesifisyys-1 on maksimoitu.

**Taulukko 3. TEL/AML1 Translocation, Dual Fusion Probe -koettimen normaalien raja-arvojen luokittelu**

Epänormaali signaalikuvio	Youden-indeksi	Normaali raja-arvo (%)
1P, 1V, 2F	1,00	3

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

**Tarkkuus ja uusittavuus**

Tarkkuus on testin luonnollisen vaihtelun mitta, kun testi toistetaan useita kertoja samoissa olosuhteissa. Tämä arvioitiin analysoimalla saman eränumeron koetinta, 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 vakiopoikkeamana (STDEV).

**Taulukko 4. TEL/AML1 Translocation, Dual Fusion Probe -koettimen uusittavuus ja tarkkuus**

Muuttuja	Vakiopoikkeama (STDEV)
Tarkkuus	0,00
Näytteestä toiseen	0,00
Päivästä toiseen	0,00
Erästä toiseen	0,00
Kokonaispoikkeama	0,00

**Kliininen suorituskyky**

Kliininen suorituskyky määritettiin näytteestä, joka edustaa tuotteen aiotua kohdeväestöä. Kunkin näytteen kohdalla tallennettiin  $\geq 100$  interfaasisolun signaalikuvioita. 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 analysoitiin herkkyyden, spesifisyyden ja raja-arvojen aikaansaamiseksi yksiuolotteista lähestymistapaa käyttämällä.

**Taulukko 5. TEL/AML1 Translocation, Dual Fusion Probe -koettimen kliininen suorituskyky**

Muuttuja	Tulos
Kliininen herkkyys (oikea positiivinen aste, TPR)	100%
Kliininen spesifisyys (oikea negatiivinen aste, TNR)	100%
Väärä positiivinen aste (FPR) = $1 - \text{spesifisyys}$	0%

**Lisätietoja**

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

**Puh.:** +44 (0)1223 294048

**Sähköposti:** techsupport@cytozell.com

**Verkkosivut:** www.cytozell.com

**Viitteet**

- Mullighan, The Journal of Clinical Investigation 2012;122(12):3407-3415
- Wang *et al.*, Genes Dev 1998;12(15):2392-2402
- Swerdlow *et al.*, (eds.) WHO Classification of Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissue, Lyon, France, 4th edition, IARC, 2017
- Borkhardt *et al.*, Blood. 1997;90(2):571-577
- Mosad *et al.*, Journal of Haematology & Oncology 2008;1:17
- Raynaud *et al.*, Blood 1996;87(7):2891-2899
- 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
IVD	fi: Lääkinnällinen laite <i>in vitro</i> - diagnostiikkaan
LOT	fi: Eräkoodi
	fi: Tutustu käyttöohjeisiin
	fi: Valmistaja
	fi: Käytön eräpäivä
	fi: Lämpötilaraja
	fi: Pidettävä poissa auringonvalosta
	fi: Riittävä sisältö <n> testiin
CONT	fi: Sisältö

**Patentit ja tavaramerkit**

Aquarius ja Cytocell ovat Cytocell Ltd -yhtiön rekisteröityjä tavaramerkkejä.



**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.cytozell.com