



A Sysmex Group Company



Käyttöohje

REF: LPH 027-S / LPH 027

AML1 (RUNX1) Breakapart Probe irrotettava koetin



VAIN AMMATTIKÄYTTÖÖN



www.cytoCELL.com

Lisätietoja ja muita kieliä saatavilla osoitteesta www.ogt.com

Rajoitukset

Laitte on suunniteltu havaitsemaan uudelleenjärjestymiä, joissa on katkoskohtia tämän koetin sarjan punaisten ja vihreiden kloonien sitomilla alueilla, joihin sisältyy AML1 (RUNX1) -alue. Tämä tuote ei ehkä havaitse kyseisen alueen ulkopuolisia katkoskohtia tai vaihtoehtoisia uudelleenjärjestymiä, jotka sisältyvät kokonaisuudessaan tälle alueelle.

Hajanaisen katkoskohdan alueen vuoksi käyttäjät voivat havaita joissakin akuutin lymfaattisen leukemian (ALL) uudelleenjärjestymissä vaihtoehtoisia signaalkuvioita.

Testiä ei ole tarkoitettu käytettäväksi riippumattomaan diagnostiikkaan, raskausajan tutkimuksiin, väestöpohjaiseen seulontaan, vieritestaukseen tai itsestestaukseen. 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 tautityyppien 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 hoitoa saa käynnistää yksinomaan FISH-tuloksen perusteella.

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

Tätä sarjaa ei ole validoitu mainitusta aiotusta käyttötarkoituksesta poikkeavaan käyttöön.

Aiottu käyttötarkoitus

CytoCell AML1 (RUNX1) Breakapart Probe irrotettava koetin on kvalitatiivinen, ei-automatisoitu FISH (fluorescence *in situ* hybridisation) -testi, jota käytetään kromosomien uudelleenjärjestymien havaitsemiseen kromosomin 21 alueella 21q22.1 Carnoy'n liuokseen (3:1 metanoli/etikahappo) fiksatoituille hematologisesti johdetuille solususpensioille potilailta, joilla on vahvistettu tai epäilty akuutti myeloinen 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 AML1 (RUNX1) -uudelleenjärjestymän tilan tunteminen olisi tärkeää kliiniselle hoidolle.

Testin periaatteet

Fuoresenssi *in situ* -hybridisaatio (FISH) on tekniikka, jonka avulla DNA-sekvenssejä voidaan havaita metafaasikromosomeista tai fiksotujen sytogeneettisten näytteiden interfaasitumista. Tekniikassa käytetään DNA-koetimiä, 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 kromosomianalyyysiin. Kohde-DNA on fiksaation 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 vastavärijätään

visualisointia varten. Sen jälkeen hybridisoitu koetin voidaan visualisoida fluoresenssimikroskopian avulla kohdemateriaalissa.

Koettimen tiedot

RUNX1 (RUNX-perheen transkriptiotekijä 1) -geeni paikassa 21q22.1 on yksi useimmin toistuvista kromosomien uudelleenjärjestymien kohteista, joita havaitaan ihmisten akuutissa leukemiassa.

Yleisimpiä uudelleenjärjestymiä ovat ETV6-RUNX1- ja RUNX1-RUNX1T1-fuusiot. ETV6-RUNX1-fusio syntyy translokaatiosta t(12;21)(p13;q22), joka on havaittavissa noin 21 prosentissa lapsuusiän B-solujen akuuteista lymfaattisista leukemioista (ALL)¹, kun taas RUNX1- RUNX1T1-fusio on seurausta translokaatiosta t(8;21)(q22;q22), jota tavataan 10–22 prosentilla akuutin myeloidisen leukemian (AML) (AML) FAB (ranskalais-amerikkalais-brittiläinen luokitus) tyyppin M2 potilaista ja 5–10 prosentissa kaikista AML-tapauksista^{2,3}. Molempia näitä uudelleenjärjestymiä pidetään hyvinä ennustetekijöinä näissä sairauksissa^{4,5}.

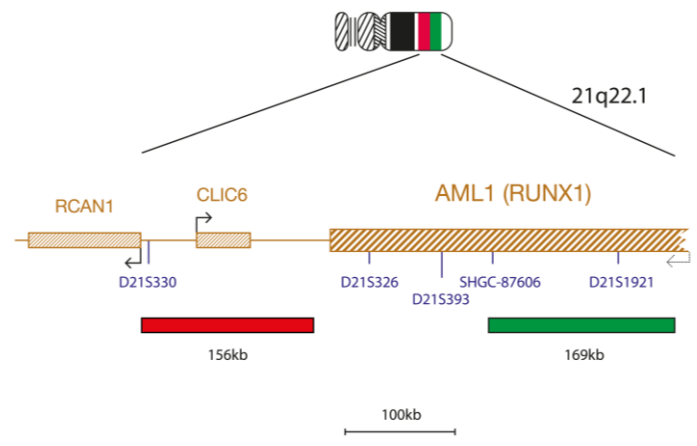
RUNX1-geeni uudelleenjärjestyy myös monissa muissa, harvinaisemmissa translokaatioissa, joissa sen partnereita ovat muun muassa kromosomit 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 9, 10, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20 ja X⁶. Tämän irrottavan koettimen tarkoitus on mahdollistaa uudelleenjärjestymien havaitseminen partnerigeenistä riippumatta.

RUNX1-uudelleenjärjestymissä on muitakin kuin translokaatioita. FISH-analyyseillä on löydetty myös kromosomin 21 (iAMP21) lisääntymistä, jossa RUNX1-geeni on mukana, lapsuusiän ALL-tapauksissa^{7,8}. Nämä monistumiset on yhdistetty huonompaan hoitotulokseen⁹.

Koettimen tekniset tiedot

AML1, 21q22.1, punainen

AML1, 21q22.1, vihreä



AML1-koetinseos sisältää punaisella leimatun 156 kb:n koettimen, joka paikantuu AML1 (RUNX1) -geenin sentromeeriseen osaan ja kattaa CLIC6-geenin sekä vihreällä leimatun 169 kb:n koettimen, joka kattaa AML1 (RUNX1) -geenin osan, mukaan lukien markerit SHGC-87606 ja D21S1921.

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-fenyylindoli)).

Varoitukset ja varoimet

1. Tarkoitettu *in vitro* -diagnostiikkakäyttöön. Vain ammattikäyttöön.
2. Käytä käsineitä käsitellessäsi DNA-koetimiä ja DAPI-vastaväriä.
3. Anturiseokset sisältävät formamidiä, joka on teratogeeni: älä hengitä höyryjä sisään tai päästä ainetta kosketuksiin ihon kanssa. Käsiteltävä varoen: käytä käsineitä ja laboratoriotakkia.
4. DAPI on potentiaalinen karsinogeeni. Käsiteltävä varoen: käytä käsineitä ja laboratoriotakkia.
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



Sarjaa on säilytettävä pakastimessa $-25\text{ }^{\circ}\text{C}$... $-15\text{ }^{\circ}\text{C}$: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 sisällymättömät

Kalibroituja laitteistoja on käytettävä:

1. Lämpölevy (kiinteällä levyllä ja tarkalla lämpötilan hallinnalla $80\text{ }^{\circ}\text{C}$:n lämpötilaan saakka)
2. Kalibroidut tilavuudeltaan vaihtelevat mikropipetit ja kärjet, 1–200 μl
3. Vesikylypy tarkalla lämpötilan hallinnalla $37\text{ }^{\circ}\text{C}$:n ja $72\text{ }^{\circ}\text{C}$: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 mikroskooppilinnin immersioöljy
12. Työpöytäseentrifugi
13. Mikroskooppiobjektilasi
14. 24 x24 mm:n peitelasit
15. Ajastin
16. $37\text{ }^{\circ}\text{C}$: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 elohopealampua tai vastaavaa ja öljymimmersiosuunnitelman 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 kolmoiskaistanpäästösuodatinta 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 käyttöä ja suodatinten iän suhteen.

Näytteen valmistelu

Sarja on suunniteltu käytettäväksi hematologisesti johdettuihin solususpensioihin, jotka on fiksatoitu Carnoy'n liuosfiksatiiviin (3:1 metanoli/etikkahappo), jotka on valmisteltu laboratorion tai laitoksen suuntaviivojen mukaisesti. Valmistele ilmakuivatut näytteet mikroskoopin objektiivilaseille sytogeneettisten vakioitoimenpiteiden mukaisesti. AGT-sytogenetiikkalaboratorion opaskirja sisältää suosituksia näytteen keräämisestä, viljelystä, poiminnasta ja objektiivilasi valmistelusta¹⁰.

Liuksen 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 laboratoriovaloilta on aina rajallista).

Objektiivilasin valmistelu

1. Laita pisara solunäytettä mikroskooppiobjektilasille. Anna kuivua. (Vaihtoehtoisesti, jos käytetään sytogeneettistä kuivauskammiota: mikroskooppiobjektilaseille on asetettava pisara näytettä sytogeneettisen kuivauskammion avulla. Kammiota on käytettävä noin $25\text{ }^{\circ}\text{C}$: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 $37\text{ }^{\circ}\text{C}$:n (+/- $1\text{ }^{\circ}\text{C}$) 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 $75\text{ }^{\circ}\text{C}$:n (+/- $1\text{ }^{\circ}\text{C}$) lämpötilaan.

Hybridisaatio

11. Laita objektiivilasi yöksi kosteaan valonkestävään säiliöön $37\text{ }^{\circ}\text{C}$:n (+/- $1\text{ }^{\circ}\text{C}$) 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 $72\text{ }^{\circ}\text{C}$:n (+/- $1\text{ }^{\circ}\text{C}$) 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 objektiivilasiensa vakaus

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

Toimenpidesuosituksukset

1. Objektiivilasiensa 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 kalibroituja 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 signaalien puuttumiseen.
5. Epätäydellinen denaturaatio saattaa johtaa signaalien 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

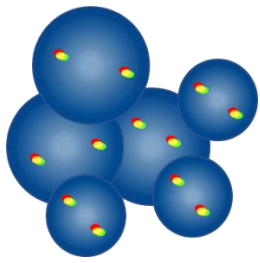
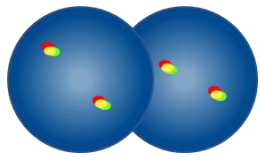
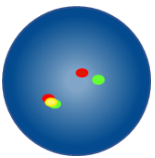
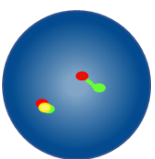
Objektiivilasin laadun arviointi

Objektiivilasia ei tarvitse analysoida, jos:

- Yksittäisten signaalien signaalit ovat liian heikkoja analysoitavaksi – jotta analyysia voidaan jatkaa, signaalien on näytävä kirkkaina, selkein 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

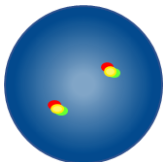
Analysointiohjeet

- Kahden analyytikon pitäisi analysoida ja tulkita jokainen näyte. Kaikki erävytydet 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 suodatimia 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/fuusioituneiksi, jos punaisen ja vihreän signaalin välinen rako on enintään kahden signaaleveyden 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 fuusiosignaali – punaisen ja vihreän signaalin välinen rako on enintään kahden signaaleveyden kokoinen |
|  | Laske kahdeksi fuusiosignaali – yksi fuusiosignaali on hajanainen |

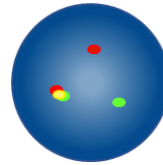
Odotettavissa olevat tulokset

Odotettavissa oleva normaali signaalikuviot



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

Odotettavissa oleva epänormaali signaalikuviot



Jos solussa on balansoitunut *AML1 (RUNX1)* -uudelleenjärjestelmä, odotettavissa oleva signaalikuviot ovat yksi punainen, yksi vihreä ja yksi fuusiosignaali (1P, 1V, 1F).

Muut signaalikuviot ovat mahdollisia aneuploidisissa / epätasapainoisissa näytteissä.

Tunnettu ristireaktiivisuus

Ei tunnettua ristireaktiivisuutta.

Haittatapahtumista raportointinen

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 prosentiosuus signaaleista, jotka hybridisoitetaan oikeaan lokukseseen eikä muihin sijainteihin. Analyttinen spesifisyys määritettiin analysoimalla yhteensä 200 kohdelokusta. Analyttinen spesifisyys laskettiin sellaisten FISH-signaalien määräksi, jotka hybridisoituivat oikeaan lokukseseen jaettuna hybridisoituneiden FISH-signaalien kokonaismäärällä.

Taulukko 1. *AML1 Breakapart Probe* irrotettavan koettimen analyttinen spesifisyys

| Koetin | Kohdelokus | Oikeaan lokukseseen hybridisoituneiden signaalien määrä | Kaikkien hybridisoituneiden signaalien kokonaismäärä | Spesifisyys (%) |
|----------------------|------------|---|--|-----------------|
| Punainen <i>AML1</i> | 21q22 | 200 | 200 | 100 |
| Vihreä <i>AML1</i> | 21q22 | 200 | 200 | 100 |

Analyttinen herkkyys

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

Taulukko 2. *AML1 Breakapart Probe* irrotettavan koettimen analyttinen herkkyys

| Sellaisten solujen määrä, joilla on odotettavissa olevat signaalikuviot | Sellaisten solujen määrä, joilla on tulosten laskennassa käytettävät signaalit | Herkkyys (%) | 95 %:n luottamusväli |
|---|--|--------------|----------------------|
| 4974 | 5000 | 99,48 | 99,24 – 99,64 |

Normaalien raja-arvojen luokittelu

Normaali raja-arvo on yhdessä FISH-koettimen kanssa maksimiprosentiosuus tulosten laskennassa käytettävistä interfaasisoluista, joilla on spesifinen epänormaali signaalikuviot, jonka kohdalla näyte katsotaan normaaliksi kyseisen signaalikuviot osalta.

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

Taulukko 3. *AML1 Breakapart Probe* irrotettavan koettimen normaalien raja-arvojen luokittelu

| Epänormaali signaalikuviot | Raja-arvon määrittämisessä analysoidujen näytteiden lukumäärä | Näytettä kohden analysoidujen tumien lukumäärä | Väriä positiivisten signaalikuvioiden suurin lukumäärä | Normaali raja-arvo (%) |
|----------------------------|---|--|--|------------------------|
| 1P, 1V, 1F | 25 | 200 | 2 | 3,5 |

Laboratorioiden on tarkistettava raja-arvot käyttäen omia tietojään^{11, 12}.

Tarkkuus ja uusittavuus

Uusittavuus määritettiin kolmessa erillisessä laboratoriossa, jotka testasivat kuusi sokkonäytettä (kaksi negatiivisia uudelleenjärjestymän osalta, kaksi heikosti positiivista näytettä, joissa oli 1–3-kertainen raja-arvo, ja kaksi vahvasti positiivista näytettä, jotka sisälsivät yli 45 prosenttia uudelleenjärjestymälle positiivisia soluja). Analyysi tehtiin käyttäen kahta kopiota jokaisesta näytteestä viiden ei-peräkkäisen päivän aikana.

Kaikissa kolmessa kohteessa suoritettiin testaus käyttäen samaa koetinerää, ja yksi kohde suoritettiin myös erän sisäisen uusittavuustestin käyttäen kolmea eri koetinerää.

Uusittavuus laskettiin käyttäen kunkin testin aikana tutkittujen muuttujen yhtäpitävyyttä.

Taulukko 4. AML1 Breakapart Probe irrotettavan koettimen uusittavuus ja tarkkuus

| Uusittavuustutkimus | Näyte | Yhtäpitävyys (%) |
|--|-----------------------|------------------|
| Päivänsisäinen/päivienvälinen/kohteidenvälinen | Negatiivinen | 100 |
| | Vahvasti positiivinen | 100 |
| Eränsisäinen | Negatiivinen | 100 |
| | Vahvasti positiivinen | 100 |

Kliininen suorituskyky

Kliininen suorituskyky määritettiin käyttämällä edustavaa joukkoa 100 peräkkäisestä näytteestä, jotka oli otettu AML:n tai MDS:n vuoksi lähetteen saaneelta potilaalta. Koettimen havaitsemien uudelleenjärjestymien imenemisprosentteja verrattiin kirjallisuuskatsauksen tuloksiin.

Tämän vertailun mahdollistamiseksi kirjallisuuden osoittama luottamusväli 100 näytteen populaation koolta laskettiin laskemalla "1-sample proportions test with continuity correction" -testillä.

Taulukko 5. AML1 Breakapart Probe irrotettavan koettimen kliininen suorituskyky

| Uudelleenjärjestely | Prevalenssi | | | |
|--------------------------------------|-------------------------|-------------|------------------------|-------------|
| | Kirjallisuuskatsaus (%) | 95% LCI (%) | Kliininen tutkimus (%) | 95% UCL (%) |
| AML ja RUNX1:n uudelleenjärjestymien | 3,8 | 1,2 | 2 | 10,2 |

Lisätietoja

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

Puh.: +44 (0)1223 294048

Sähköposti: techsupport@cytoCELL.com

Verkkosivut: www.ogt.com

Viitteet

- Jamil A *et al.* Cancer Genet Cytogenet. 2000;122(2):73-8.
- Swerdlow *et al.* (eds). WHO Classification of Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissue. Lyon, France, 4th edition, IARC, 2017.
- Reikvam H, *et al.* J Biomed Biotechnol. 2011; 2011:104631.
- Shurtleff *et al.* Leukemia. 1995 Dec;9(12):1985-9.
- Cho *et al.* Korean J Intern Med. 2003 Mar;18(1):13-20.
- De Braekeleer *et al.* Anticancer Research. 2009;29(4):1031-1038.
- Niini T. Haematologica 2000;85(4):362-6.
- Harewood *et al.* Leukemia. 2003 Mar;17(3):547-53.
- Robinson HM *et al.* Leukemia. 2003;17(11):2249-50.
- 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

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@cytoCELL.com
Verkkosivut: www.ogt.com