



A Sysmex Group Company



### Käyttöohje

REF: LPH 079-S / LPH 079

## E2A (TCF3)/PBX1 Translocation, Dual Fusion Probe -koetin



VAIN AMMATTIKÄYTTÖÖN



www.cytocell.com

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

### Rajoitukset

Laitte on suunniteltu havaitsemaan uudelleenjärjestyksiä, joissa on katkoskohtia koetinsarjan punaisten ja vihreiden kloonien sitomalla alueella, johon sisältyvät *TCF3*- ja *PBX1*-alueet. Tämä tuote ei ehkä havaitse kyseisen alueen ulkopuolisia katkoskohtia tai vaihtoehtoisia uudelleenjärjestyksiä, jotka sisältävät 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 ottamalla 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 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 E2A (TCF3)/PBX1 Translocation, Dual Fusion Probe -koetin on kvalitatiivinen, ei-automatisoitu FISH (fluorescence in situ hybridisation) -testi, jota käytetään kromosomien uudelleenjärjestyksiä havaitsemiseen kromosomin 1 alueen 1q23.3 ja kromosomin 19 alueen 19p13.3 välillä Carnoy'n liuokseen (3:1 metanoli/etikkahappo) fiksoituille, 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 *TCF3-PBX1*-translokaation tilan tunteminen olisi tärkeää kliiniselle hoidolle.

### Testin periaatteet

Fluoresenssi *in situ*-hybridisaatio (FISH) on tekniikka, jonka avulla DNA-sekvenssejä voidaan havaita metafasisikromosomeista 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 tutkimusvälineenä raskauden aikaiseen, hematologiseen ja kiinteiden tumorien kromosomianalyysiin. Kohde-DNA on fiksaation ja denaturaation jälkeen saatavilla palautumiseksi samalla tavoin denaturoitua, fluoresenssimerkittyyn 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

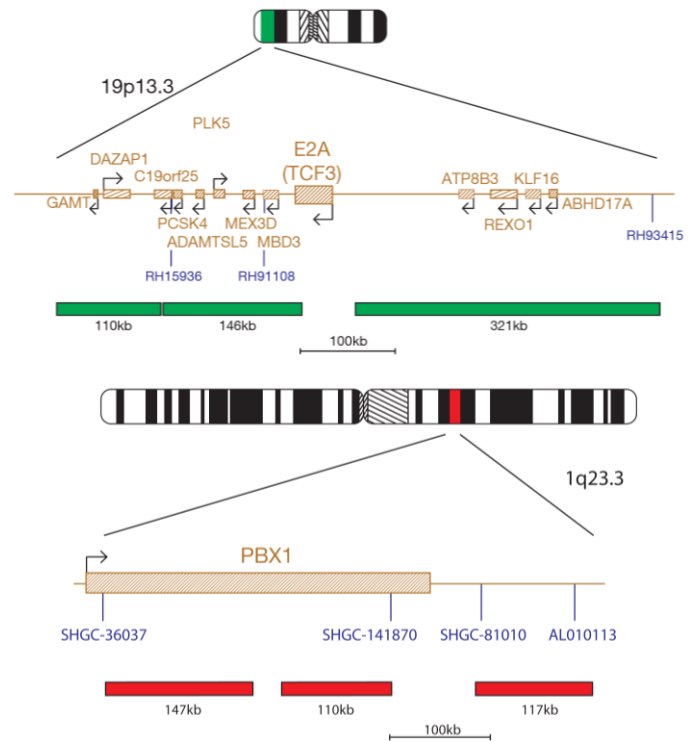
*TCF3* (*transkriptiotekijä 3*)-geeni paikantuu alueelle 19p13.3 ja *PBX1* (*PBX-homeoboksi 1*) alueelle 1q23.3. Translokaatiot, joihin liittyy *TCF3*, ovat yleisimpiä uudelleenjärjestyksiä lapsuusiän B-solujen akuutissa lymfaattisessa leukemiassa (ALL)<sup>1,2</sup>.

Kaksi merkittäväntä *TCF3*-partneria ovat *PBX1* paikassa 1q23.3 ja *HLF* paikassa 17q22. Nämä fuusioituvat *TCF3*:n kanssa translokaatioiden t(1;19)(q23;p13) ja t(17;19)(q22;p13) tuloksena muodostaen fuusiogeenit *TCF3-PBX1* ja *TCF3-HLF*, tässä järjestyksessä. Harvinaisen kryptisen inversion, inv(19)(p13;q13), on raportoitu fuusioivan *TCF3*:n TFPT:hen (*TCF3-fuusiopartneri*), jolloin syntyy *TCF3-TFPT*-fuusiogeeni<sup>1</sup>.

Ison-Britannian ja Euroopan parhaiden käytäntöjen ohjeissa suositellaan tekemään ero translokaatioiden t(17;19)(q22;p13) ja t(1;19)(q23;p13) välillä, jos *TCF3*-uudelleenjärjestymä havaitaan B-solun ALL-leukemiassa, sillä aiemmin mainittu translokaatio liittyy huonoon ennusteeseen<sup>3,4</sup>.

### Koettimen tekniset tiedot

*PBX1*, 1q23.3, punainen  
*E2A*, 19p13.3, vihreä



Vihreällä leimattu E2A-koetin sisältää kaksi koetinta (110 kb ja 146 kb), jotka kattavat 3'-pään E2A (*TCF3*)-geenistä ja sen viereisestä alueesta sekä 321 kb:n koettimen, joka kattaa geenistä 5'-alueen (sentromeerinen). Punaisella leimattu *PBX1*-koetin sisältää kaksi koetinta (147 kb ja 110 kb), jotka kartoittavat *PBX1*-geeniä, ja 117 kb:n koettimen, joka kartoittaa geenin 3'-alueen (telomeerinen).

### 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 häpyymistä ehkäisevä (ES: 0,125 µg/ml DAPI (4,6-diamidino-2-fenyyli-indoli)).

### Varoitukset ja varoimet

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, laboratoriotaakia ja käsittele vetokaapissa. Huuhtelee suurella määrällä vettä hävittämisen yhteydessä.
4. DAPI on potentiaalinen karsinogeeni. Käsiteltävä varoen: käytä käsinettä ja laboratoriotaakia. 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 reagenssejä 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  $-25\text{ °C}$  ...  $-15\text{ °C}$ :n lämpötilassa sarjan etiketissä ilmoitettuun eräpäivään saakka Koetinta ja vastaväripulloja on säilytettävä pimeässä.



Koetin pysyy vakaana normaalissa käytössä ilmenevien pakastus- ja sulatusjaksoiden 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

Kalibroituja laitteistoja on käytettävä:

1. Lämpölevy (kiinteällä levyllä ja tarkalla lämpötilan hallinnalla  $80\text{ °C}$ :n lämpötilaan saakka)
2. Kalibroidut tilavuudeltaan vaihtelevat mikropipetit ja kärjet,  $1\text{--}200\text{ }\mu\text{l}$
3. Vesikylpy tarkalla lämpötilan hallinnalla  $37\text{ °C}$ :n ja  $72\text{ °C}$ :n lämpötilassa
4. Mikrosentrifugiletkut ( $0,5\text{ ml}$ )
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  $6,5\text{--}8,0$ :n pH-arvo)
10. Kostutettusäiliö
11. Fluoresenssiluokan mikroskooppilinsin immersioöljy
12. Työpöytäsentrifugi
13. Mikroskooppiobjektilasi
14.  $24\text{ x }24\text{ mm}$ :n peitelasi
15. Ajastin
16.  $37\text{ °C}$ :n inkubaattori
17. Kumiliuosliima
18. Pyörresekoitin
19. Mittasyliinteri
20. Magneettinen sekoitin
21. Kalibroitu lämpömittari

## Valinnainen laitteisto, ei sisälly pakkaukseen

1. Sytogeneettinen kuivauskammio

## Tarvittavat reagenssit, jotka eivät sisälly pakkaukseen

1.  $20\text{ x}$  suolaliuos-natriumsitraattiliuos (SSC)
2.  $100\%$  etanolia
3. Tween-20
4.  $1\text{ M}$  natriumhydroksidi (NaOH)
5.  $1\text{ M}$  suolahappo (HCl)
6. Akkuvesi

## Fluoresenssimikroskooppisuositus

Käytä  $100$  watin elohopealamppua tai vastaavaa ja öljyimmersion suunnitelman  $60/63\text{x}$ - tai  $100\text{x}$ -apokromaattiohjelmia parhaaseen mahdolliseen visualisointiin. Tässä koetinsarjassa käytettävät loisteaineet viritetyt ja säteilevät seuraavilla aaltopituuksilla:

| Loisteaine | Viritys <sub>maks</sub> [nm] | Emissio <sub>maks</sub> [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 kaksiskaistanpäästösuodatinta 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 häilymistä ehkäisevän DAPIn sekoittamista mikroskoopin immersioöljyn kanssa, sillä se hämärtää signaaleita. Noudata valmistajien suosituksia lampun käyttöajan ja suodatintien iän suhteen.

## Näytteen valmistelu

Sarja on suunniteltu käytettäväksi hematologisesti johdettuihin solususpensioihin, jotka on fiksatoitu Carnoy'n liuosfiksatiiviin ( $3:1$  metandi/etikahappo), jotka on valmistettu laboratorion tai laitoksen suuntaviivojen mukaisesti. Valmistele ilmakuvattavat näytteet mikroskoopin objektiivilaseille sytogeneettisten vakio-toimenpiteiden mukaisesti. AGT-sytogenetikkalaboratorion opaskirja sisältää suosituksia näytteen keräämisestä, viljelystä, poiminnasta ja objektiivilasiin valmistelusta<sup>5</sup>.

## Liuosvalmistus

### 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  $20\text{ x}$  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  $20\text{ x}$  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  $20\text{ x}$  SSC-liuosta  $9$  osaan akkuvettä. Lisää  $5\text{ }\mu\text{l}$  Tween-20-liuosta  $10\text{ ml}$  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 laboratoriolle on aina rajallista).

## Objektiivilasin valmistelu

1. Laita pisara solunäytettä mikroskooppiobjektilasille. Anna kuivua. (Vaihtoehtoisesti, jos käytetään sytogeneettistä kuivauskammioita: mikroskooppiobjektilasille on asetettava pisara näytettä sytogeneettisen kuivauskammion avulla. Kammioita on käytettävä noin  $25\text{ °C}$ :n lämpötilassa ja  $50\%$ :n kosteudessa, jotta solunäytepisara voidaan asettaa optimaalisesti lasille. Mikäli sytogeneettistä kuivauskammioita ei ole saatavilla, käytä vaihtoehtoisesti vetokaappia).
2. Upota objektiivilasi  $2\text{ x}$  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  $10\text{ }\mu\text{l}$  koetinta testiä kohti ja siirrä se mikrosentrifugiputkeen. Palauta jäljelle jäänyt koetin nopeasti pakastimeen.
8. Aseta koetin ja näyteobjektiivilasi esilämpimään  $37\text{ °C}$ :n ( $\pm 1\text{ °C}$ ) lämpölevylle  $5$  minuutiksi.
9. Laita  $10\text{ }\mu\text{l}$  koetinseosta solunäytteelle ja aseta peitelasi varen paikalleen. Sulje kumiliuosliimalla ja anna liiman kuivua täysin.

## Denaturaatio

10. Denaturoi näyte ja koetin samanaikaisesti kuumentamalla objektiivilasia lämpölevylle  $2$  minuutin ajan  $75\text{ °C}$ :n ( $\pm 1\text{ °C}$ ) lämpötilaan.

## Hybridisaatio

11. Laita objektiivilasi yöksi kostean valonkestävään säiliöön  $37\text{ °C}$ :n ( $\pm 1\text{ °C}$ ) lämpötilaan.

## Hybridisaation jälkeiset pesut

12. Poista DAPI pakastimesta ja anna sen lämmetä huoneenlämpötilaan.
13. Poista peitelasi ja kaikki liimajäljet huolellisesti.
14. Upota objektiivilasi  $0,4\text{ x}$  SSC-liuokseen (pH  $7,0$ )  $2$  minuutiksi  $72\text{ °C}$ :n ( $\pm 1\text{ °C}$ ) lämpötilassa ravistamatta.
15. Tyhjennä objektiivilasi ja upota se  $30$  sekunniksi  $2\text{ x}$  SSC-liuokseen ja  $0,05\%$  Tween-20-liuokseen huoneenlämpötilassa (pH  $7,0$ ) ravistamatta.
16. Tyhjennä objektiivilasi ja laita kuhunkin näytteeseen  $10\text{ }\mu\text{l}$  häilymistä ehkäisevää DAPIn.
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. Objektiivilasiin sintraaminen tai ikäännyttäminen saattaa heikentää signaalien fluoresenssia
2. Muiden kuin Cytocell Ltd -yhtiön toimittamien tai suosittelemien reagenssien käyttö saattaa vaikuttaa haitallisesti hybridisaatio-dosuhteisiin.
3. Käytä liuosten, vesikylpyjen ja inkubaattorien lämpötilojen mittaukseen kalibroituja lämpömittareita, sillä nämä lämpötilat ovat ratkaisevan tärkeitä tuotteen optimaalisen suorituskyvyn kannalta.
4. Pesupitoisuudet, pH-arvo ja lämpötilat ovat tärkeitä, sillä liiallinen löyhys 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

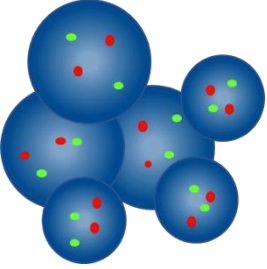
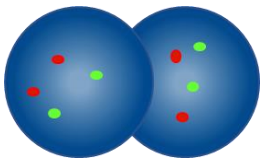
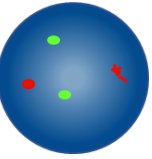
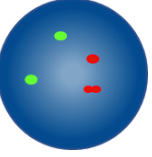
### Objektiivilasin laadun arviointi

Objektiivilasia ei tarvitse analysoida, jos:

- Yksittäisten signaalien signaalit ovat liian heikkoja analysoitavaksi – jotta analyysia voidaan jatkaa, signaalien on näytävä kirkkaina, selkeinä ja helposti arvioitavina
- 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 tumen rajoja ei voida erottaa, eivätkä ne ole eheitä

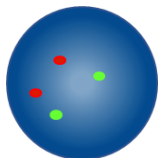
### Analysointiohjeet

- 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 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 tumen 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.
- 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 tumen 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 |

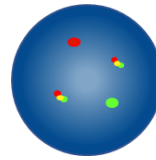
### Odotettavissa olevat tulokset

Odotettavissa oleva normaali signaalikuvio

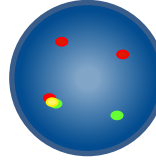


Tavallisessa solussa on odotettavissa kaksi punaista ja kaksi vihreää signaalia (2P, 2V).

### Odotettavissa olevat epänormaalit signaalikuviot



Solussa, jossa on tasapainottunut t(1;19)(q23;p13.3), odotettavissa oleva signaalikuvio on yksi punainen, yksi vihreä ja kaksi fuusiosignaalia, jotka saattavat näyttää lähekkäin olevilta punaiselta ja vihreältä signaalilta (1P, 1V, 2F).



Jos solussa on tasapainottumaton der(19)t(1;19)(q23;p13.3), odotettavissa oleva signaalikuvio on kaksi punaista, yksi vihreä ja yksi fuusiosignaali (2P, 1V, 1F).

Muut signaalikuviot ovat mahdollisia aneuploidisissa / epätasapainoisissa näytteissä.

### Tunnettu ristireaktiivisuus

Ei tunnettua ristireaktiivisuutta.

### 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](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 suorituskykyominaisuudet

#### Analyttinen spesifisyys

Analyttinen spesifisyys on prosenttiosuus signaaleista, jotka hybridisoituvat 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. E2A/PBX1 Translocation, Dual Fusion Probe -koettimen analyttinen spesifisyys

| Koetin        | Kohdelokus | Oikeaan lokukseseen hybridisoituneiden signaalien määrä | Kaikkien hybridisoituneiden signaalien kokonaismäärä | Spesifisyys (%) |
|---------------|------------|---|--|-----------------|
| E2A vihreä    | 19p13.3    | 200   | 200  | 100             |
| PBX1 punainen | 1q23.3     | 200   | 200  | 100             |

#### Analyttinen herkkyys

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

Taulukko 2. E2A/PBX1 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 |
|---|--|--------------|----------------------|
| 478   | 500  | 95,6         | 1,5                  |

#### 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 kynnyksen löytämiseksi, jonka herkkyys + spesifisyys-1 on maksimoitu.

Taulukko 3. E2A/PBX1 Translocation, Dual Fusion Probe -koettimen normaalin raja-arvojen luokittelu

| Epänormaali signaalikuvio | Youden-indeksi | Normaali raja-arvo (%) |
|---------------------------|----------------|------------------------|
| 2P, 1V, 1F                | 0,99           | 1                      |

Laboratorioiden on tarkistettava raja-arvot käyttäen omia tietojaan<sup>6, 7</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 vakiopoitkeamana (STDEV).

Taulukko 4. E2A/PBX1 Translocation, Dual Fusion Probe -koettimen uusittavuus ja tarkkuus

| Muuttuja           | Vakiopoitkeama (STDEV) |
|--------------------|------------------------|
| Tarkkuus           | 0,00                   |
| Näytteestä toiseen | 0,00                   |
| Päivästä toiseen   | 0,00                   |
| Erästä toiseen     | 0,00                   |
| Kokonaispoitkeama  | 0,00                   |

#### Kliininen suorituskyky

Kliininen suorituskyky määritettiin näytteestä, joka edustaa tuotteen aiottua kohdeväestöä. Kunkin näytteen kohdalla tallennettiin  $\geq 100$  interfaasisolun signaalikuvioita. Normaali / epänormaali määrittäminen tehtiin vertaamalla sellaisen solujen prosenttiosuus, jolla oli spesifinen epänormaali signaalikuvio normaalin raja-arvoon verrattuna. Tuloksia verrattiin sen jälkeen näytteen tunnettuun tilaan.

Kliinisten tietojen tulokset analysitiin herkkyyden, spesifisyyden ja raja-arvojen aikaansaamiseksi yksilöiteistä lähestymistapaa käyttämällä.

Taulukko 5. E2A/PBX1 Translocation, Dual Fusion Probe -koettimen kliininen suorituskyky

| Muuttuja   | Tulos |
|--|-------|
| Kliininen herkkyys (oikea positiivinen aste, TPR)        | 99,9% |
| Kliininen spesifisyys (oikea negatiivinen aste, TNR)     | 100%  |
| Väärä positiivinen aste (FPR) = $1 - \text{spesifisyys}$ | 0,00% |

#### 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

1. Van der Burg *et al.*, Leukemia 2004;18(5):895-908
2. Swerdlow *et al.*, (eds.) WHO Classification of Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissue, Lyon, France, 4th edition, IARC, 2017
3. Professional Guidelines for Clinical Cytogenetics: Acute Lymphoblastic Leukaemia BEST PRACTICE GUIDELINES (2011) V1.00. www.cytogenetics.org.uk
4. Hasting *et al.*, Guidelines and Quality Assurance for Acquired Cytogenetics (2013) ECA Newsletter:31
5. Arsham, MS., Barch, MJ. and Lawce HJ. (eds.) (2017) *The AGT Cytogenetics Laboratory Manual*. New Jersey: John Wiley & Sons Inc.
6. 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.
7. 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 Cytozell Ltd:n rekisteröity tavaramerkki.



#### Cytozell 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