



A Sysmex Group Company



Käyttöohje

REF: LPH 024-S / LPH024

Del (5q) Deletion Probe -koetin



VAIN AMMATTIKÄYTTÖÖN



www.cytocell.com

Lisätietoja ja muita kieliä saatavilla osoitteesta www.ogt.com

Rajoitukset

Tämän laitteen tarkoitus on havaita genomien puutteita, jotka ovat suurempia kuin tämän koetinsetin punaisen kloonin kattama alue, johon sisältyy 5q31.2-alue. Tämä tuote ei ehkä havaitse kyseisen alueen ulkopuolisia genomien puutteita tai tämän alueen osittaisia puutteita.

Testiä ei ole tarkoitettu käytettäväksi riippumattomaan diagnostiikkaan, raskausajan tutkimuksiin, väestöpohjaiseen seulontaan, vieritestaukseen tai itsetestaukseen. Tämä tuote on tarkoitettu ainoastaan ammattimaiseen laboratoriotutkimukseen; 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 käyttökohteissa.

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 laboratoriotestien 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 Del (5q) Deletion Probe -koetin on kvalitatiivinen, ei-automatisoitu, FISH (fluorescence *in situ* hybridisation) -testi, jota käytetään kromosomien deleetioiden havaitsemiseen kromosomin 5 alueella 5q31.2 Carnoy'n liuokseen (3:1 metanoli/etikahappo) fiksatoituille, hematologisesti johdetuille solususpensioille potilailta, joilla on vahvistettu tai epäilty akuutti myeloinen leukemia (AML) tai myelodysplastinen oireyhtymä (MDS).

Käyttöaiheet

Tämä tuote on suunniteltu käytettäväksi muiden kliinisten ja histopatologisten testien lisäksi vakiintuneissa diagnostiikan ja kliinisen hoidon hoitopoloissa, joissa 5q31.2-deleetioiden tilan tuntemus 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 tutkimustyökaluna raskauden aikaiseen, 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

Kromosomin 5 pitkän varren deleetiot ovat yleisimpiä karyotyypin poikkeavuuksia myelodysplastisessa oireyhtymässä (MDS) ja akuutissa myeloidisessa leukemiassa (AML), jossa on myelodysplasiaan liittyviä muutoksia^{1,2}.

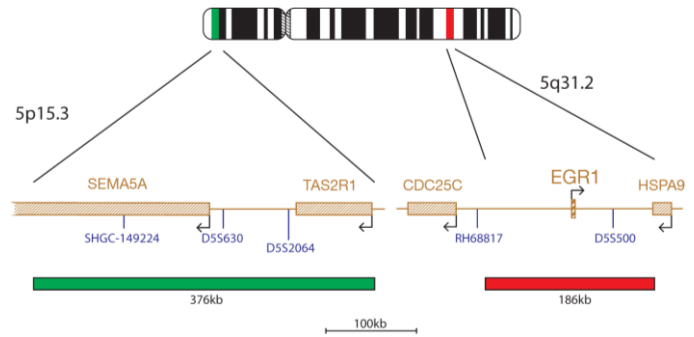
Potilaiden alaluokalla, joilla on del(5q) ainoana sytogeneettisenä poikkeavuutena, on yhdenmukainen joukko kliinisiä ominaisuuksia, joita kutsutaan 5q-oireyhtymäksi¹. Tällä kliinisellä kokonaisuudella, jolla on <5 % blasteja, on suotuisampi ennuste ja se reagoi hoitoon lenalidomidilla. Kuitenkin del(5q)-potilaat, joilla on muita sytogeneettisiä poikkeamia tai runsaasti blasteja, selviytyvät huonommin^{2,3}.

Kaksi kromosomialuetta on kartoitettu kromosomiin 5q MDS:ssä. Yksi yhteinen deleetoitunut alue paikassa 5q33 liittyy 5q-oireyhtymään. Toinen, proksimaalisempi alue, joka paikantuu alueelle 5q31, on yhdistetty aggressiivisempaan MDS:n ja AML:n muotoon, ja siihen liittyy usein muita sytogeneettisiä poikkeamia ja huonompi ennuste^{1,3,4}.

CytoCell del(5q)-koetin havaitsee EGR1 (varhaisen kasvuvasteen geeni 1) -deleetiot tuumorisuppressorigeenissä paikassa 5q31. EGR1:n on osoitettu toimivan haploinsuffisienssin kautta MDS/AML:n kehittymisen käynnistämiseksi⁵.

Koettimen tekniset tiedot

EGR1, 5q31.2, punainen
5p15.3, vihreä



Punaisella leimattu EGR1-koetin kattaa 186 kb alueella 5q31.2, joka sisältää D5S500-markkerin. Koetinseoksessa on myös vihreällä leimattu kontrollikoetin kromosomille 5 paikassa 5p15.3, joka sisältää markkerin D5S630.

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-fenyyli-indoli)).

Varoitukset ja varotoimet

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. Käsiteltävä varoen: käytä käsinettä ja laboratoriotakkia.
4. DAPI on potentiaalinen karsinogeeni. Käsiteltävä varoen: käytä käsinettä 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 °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 Tarvittavat mutta pakkaukseen sisällyttämättömät

DSO61/CE-fi v010.00/2020-12-01 (H017 v7)

Sivu 1 / 4

Kalibroituja laitteistoja 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 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. Kostutettusäiliö
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 elohopealamppua tai vastaavaa ja öljyimmersionsuunnitelman 60/63x- tai 100x-apokromaattiohjelmia parhaaseen mahdolliseen visualisointiin. Tässä koetinsarjassa käytettävät loisteaineet virittyvät ja säteilevät seuraavilla aallonpituuksilla:

Loisteaine	Viritys _{maks} [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 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 käyttöön ja suodatinten iän suhteen.

Näytteen valmistelu

Sarja on suunniteltu käytettäväksi hematologisesti johdettuihin solususpensioihin, jotka on fiksatoitu Carnoy'n liuosfiksatiivilla (3:1 metanoli/etikahappo), jotka on valmistettu laboratorion tai laitoksen suuntaviivojen mukaisesti. Valmistele ilmakuivatut näytteet mikroskoopin objektiivilaseille sytogeneettisten vakioimenpiteiden mukaisesti. AGT-sytogeneetikalaboratorion opaskirja sisältää suosituksia näytteen keräämisestä, viljelystä, poiminnasta ja objektiivilasiensa valmistelusta⁶.

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 laboratorioalolle 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. 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 sdunäytteelle 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 häilymistä ehkäisevää DAPLa.
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 signaalin fluoresenssia
2. Muiden kuin Cytocell Ltd -yhtiön toimittamien tai suosittelemien reagenssien käyttö saattaa vaikuttaa haitallisesti hybridisaatio-dosuhteisiin.
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 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 protokola ennen testin käyttöä.
8. Suboptimaaliset olosuhteet saattavat johtaa epäspesifiseen sitoutumiseen, jotka saatetaan tulkita koetinsignaaleiksi.

Tulosten tulkitseminen

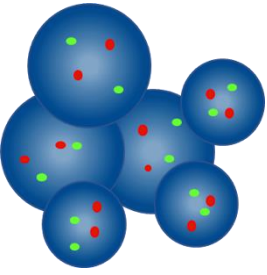
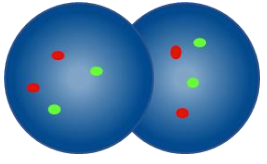
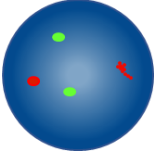
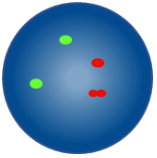
Objektiivilasiensa laadun arviointi

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 tuman rajoja ei voida erottaa, eivätkä ne ole eheitä

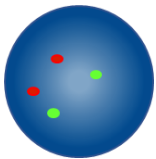
Analysointiohjeet

- Kahden analytiikan pitäisi analysoida ja tulkita jokainen näyte. Kaikki eriytyvät on annettava kolmannen analytiikan arvioitavaksi
- Jokaisella analytiikalla on oltava sopiva pätevyys tunnustettujen kansallisten standardien mukaan.
- Jokaisen analytiikan pitäisi saada riippumattomasti 100 tumaa kustakin näytteestä. Ensimmäisen analytiikan pitäisi käynnistää analyysi objektiivilasin vasemmalta puolelta ja toisen analytiikan oikealta puolelta
- Kunkin analytiikan 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 tumaa 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 tumaa kaikki alueet eivät ole näkyvissä
	Laske kahdeksi punaiseksi signaaliksi ja kahdeksi vihreäksi signaaliksi – toinen kahdesta punaisesta signaalista on hajanainen
	Laske kahdeksi punaiseksi signaaliksi ja kahdeksi vihreäksi signaaliksi – toisen punaisen signaalin rako on pienempi kuin kaksi signaalileveyttä

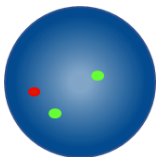
Odotettavissa olevat tulokset

Odotettavissa oleva normaali signaalikuvio

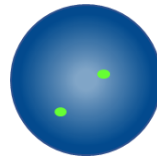


Tavallisessa solussa on odotettavissa kaksi punaista ja kaksi vihreää signaalia (2P, 2V).

Odotettavissa olevat epänormaalit signaalikuviot



Solussa, jossa on 5q31.2:n hemisyygootin deleetio, odotettavissa oleva signaalikuvio on yksi punainen ja kaksi vihreää signaalia (1P, 2V).



Solussa, jossa on homotsygoottinen deleetio, odotettavissa oleva signaalikuvio on nolla punaista ja kaksi vihreää signaalia (0P, 2V).

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).

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 hybridisoidaan 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. Del (5q) Deletion Probe -koettimen analyttinen spesifisyys

Koetin	Kohdelokus	Oikeaan lokukseseen hybridisoituneiden signaalien määrä	Kaikkien hybridisoituneiden signaalien kokonaismäärä	Spesifisyys (%)
Punainen EGR1	5q31.2	200	200	100
Vihreä 5p15.3	5p15.3	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. Del (5q) Deletion 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
4944	5000	98,88	98,55 – 99,14

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 uudelleenjärjestymälle negatiivisista näytteistä, jota koetin on tarkoitettu tunnistamaan, ja käyttäen käänteistä beetafunktiota. Kaksi analytiikkaa kirjasi toisistaan riippumatta 100 interfaasisolun signaalikuvion, yhteensä 200 näytettä kohden.

Taulukko 3. Del (5q) Deletion Probe -koettimen normaalien raja-arvojen luokittelu

Epänormaali signaalikuvio	Raja-arvon määrittämisessä analysoitujen näytteiden lukumäärä	Näytettä kohden analysoitujen tumien lukumäärä	Väriä sisältävien signaalikuvioiden suurin lukumäärä	Normaali raja-arvo (%)
1P, 2V	1300	200	7	6,3

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

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. Del (5q) Deletion Probe -koettimen uusittavuus ja tarkkuus

Uusittavuustutkimus	Näyte	Yhtäpitävyys (%)
Päivänsisäinen/päivienväläinen/kohteidenväläinen	Negatiivinen	100
	Vahvasti positiivinen	100
Eränsisäinen	Negatiivinen	83
	Vahvasti positiivinen	100

Kliininen suorituskyky

Kliininen suorituskyky määritettiin käyttäen valikoimattomien potilaiden edustavaa joukkoa, jotka olivat saaneet lähetteen AML:n tai MDS:n vuoksi kahteen eri kohteeseen (100 näytettä kerättiin kohteesta yksi, ja 413 näytettä kohteesta kaksi). Koettimen havaitsemien uudelleenjärjestymien ilmenemisprosentteja 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. Del (5q) Deletion Probe -koettimen kliininen suorituskyky

Uudelleenjärjestely	Prevalenssi				
	Kirjallisuuskatsaus (%)	95% LCI (%)	Kohde 1 (%)	Kohde 2 (%)	95% UCL (%)
AML ja 5q:n puuttuminen / uudelleenjärjestynyt 5q / monosomia 5 "5q-poikkeama"	6	2,5	9	10,93	13,1
MDS ja 5q:n puuttuminen/uudelleenjärjestymien	8	3,8			15,6

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

- Ebert, Best Pract Res Clin Haematol 2010;23(4):457-461
- Swerdlow *et al.*, (eds.) WHO Classification of Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissue, Lyon, France, 4th edition, IARC, 2017
- Fang *et al.*, Cell Reports 2014;8(5):1328-1338
- Boulwood *et al.*, Blood;116(26):5803-5811
- Joslin *et al.*, Blood;110(2):719-726
- 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> -diagnoosiin
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