



A Sysmex Group Company



## Käyttöohje

VIITE: CE-LPH 026-S / CE-LPH 026

# AML1/ETO (RUNX1/RUNX1T1) Translocation, Dual Fusion Probe



VAIN AMMATTIKÄYTTÖÖN



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

### Käyttötarkoitus

CytoCell® AML1/ETO (RUNX1/RUNX1T1) Translocation, Dual Fusion Probe -koetin on kvalitatiivinen, ei-automatisoitu FISH (fluorescence *in situ* hybridisation) -testi, jota käytetään kromosomien uudelleenjärjestymien havaitsemiseen kromosomin 21 alueen 21q22.1 ja kromosomin 8 alueen 8q21.3 välillä Carnoy'n liuokseen (3:1 metanoli/etikkahappo) fiksoiduille, hematologisesti johdetuille solususpensioille potilailta, joilla on vahvistettu tai epäilty akuutti myeloinen leukemia (AML).

### Käyttöaiheet

Tämä laite on suunniteltu käytettäväksi muiden kliinisten ja histopatologisten testien lisäksi vakiintuneissa diagnostiikan ja kliinisen hoidon hoitopoluissa, joissa AML1::ETO (RUNX1::RUNX1T1) -translokaation tilan tunteminen olisi tärkeää kliiniselle hoidolle.

### Rajoitukset

Laitte on suunniteltu havaitsemaan uudelleenjärjestymiä, joissa on katkoskohtia koetinsarjan punaisten ja vihreiden kloonien kattamilla alueilla, joihin sisältyvät AML1- ja ETO (RUNX1 ja RUNX1T1) -alueet. Tämä laite ei ehkä havaitse kyseisen alueen ulkopuolisia katkoskohtia tai vaihtoehtoisia uudelleenjärjestymiä, jotka sisältyvät kokonaisuudessaan tälle alueelle.

Tätä laitetta ei ole tarkoitettu käytettäväksi riippumattomaan diagnostiikkaan, kytkösdiaagnostiikkaan, raskausajan tutkimuksiin, väestöpohjaiseen seulontaan, vieritestaukseen tai itsestaukseen.

Tätä laitetta ei ole validoitu muille kuin käyttötarkoituksessa ilmoitetuille näytetyypeille, tautityypeille tai käyttökohteille.

Se on tarkoitettu muiden diagnostisten laboratoriotestien apuvälineeksi, eikä hoitotoimia saa käynnistää yksinomaan FISH-tuloksen perusteella.

Soveltuvan pätevyuden saaneen henkilöstön tekemän FISH-tulosten raportoinnin ja tulkinan on oltava yhdenmukainen ammattimaisten käytäntöstandardien kanssa, ja niissä on otettava huomioon muut olennaiset testitulokset ja kliiniset ja diagnostiset tiedot.

Tämä laite on tarkoitettu ainoastaan ammattimaiseen laboratoriokäyttöön.

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

### Testin periaatteet

Fluoresenssi *in situ* -hybridisaatio (FISH) on tekniikka, jonka avulla DNA-sekvenssejä voidaan havaita metafaasikromosomeista tai fiksoitujen sytogeneettisten näytteiden interfaasitumista. Tekniikassa käytetään DNA-koettimia, joiden avulla hybridisaatio koskee kokonaisia kromosomeja tai yksittäisiä, ainutkertaisia sekvenssejä ja jotka toimivat tehokkaana sytogeneettisen G-rait-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 denaturoitua, fluoresenssimerkittyyn DNA-koettiin, 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

RUNX1 (RUNX-perheen transkriptiotekijä 1) -geeni kohdassa 21q22.1 fuusioituu RUNX1T1 (RUNX1-partnerin transkription korepressor 1) -geeniin Ensembl-paikassa 8q21.3, translokaatioissa t(8;21)(q21.3;q22.1), jota tavataan useimmin potilailta, joilla on akuutti myeloinen leukemia (AML) FAB (ranskalais-amerikkalais-brittiläinen luokitus) tyyppiä M2.

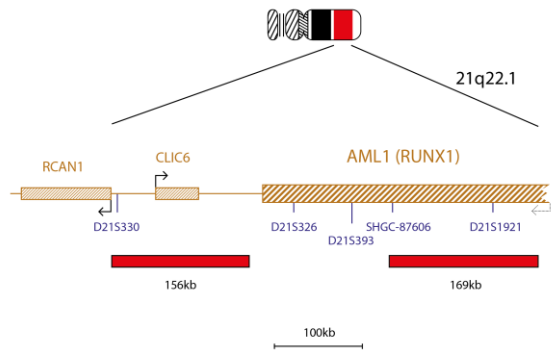
AML ja RUNX1::RUNX1T1-fusio, joka on seurausta translokaatiosta t(8;21)(q21.3;q22.1), on tunnistettu tautikokonaisuus Maailman terveysjärjestön (WHO) myeloisten neoplasmien ja akuuttien leukemioiden luokituksen mukaisesti<sup>1</sup>. Translokaatiota tavataan 10–22 prosentilla AML FAB tyyppin M2 potilaista ja 5–10 prosentilla kaikista AML-tapauksista, useimmiten lapsilla ja nuorilla aikuisilla, ja se on hyvä ennustetekijä<sup>3,4,5</sup>. Katkoskohta t(8;21) esiintyy pääasiassa intronissa eksonien 5 ja 6 välillä juuri ennen transaktivaatiodomeenia, ja syntyvä fuusioproteiini sisältää RUNX1:n DNA:ta sitovan domeenin, joka on fuusioitunut transkriptiotekijään RUNX1T1<sup>2</sup>.

RUNX1::RUNX1T1-fusion synnyttävän resiprookkisen t(8;21) translokaation lisäksi on myös raportoitu vaihtoehtoisia translokaatioita. Nämä vaihtoehtoiset translokaatiot voivat olla kryptisiä ja jäädä helposti huomaamatta G-raitavärväyksessä. FISH-analyysillä voidaan kuitenkin todeta tällaiset uudelleenjärjestymät<sup>2</sup>.

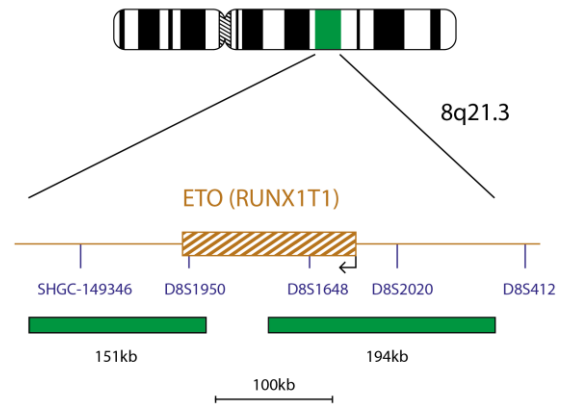
### Koettimen tekniset tiedot

AML1, 21q22.1, punainen  
ETO, 8q21.3, vihreä

CMP-H004 v006.00



CMP-H005 v005.00



AML1-komponentti sisältää punaisella leimatun 156 kb:n koettimen, joka paikantuu AML1 (RUNX1) -geenin sentromeeriseen osaan ja kattaa CLIC6-geenin, sekä 169 kb:n koettimen, joka kattaa AML1 (RUNX1) -geenin osan, mukaan lukien markerit SHGC-87606 ja D21S1921. Vihreällä leimattu ETO (RUNX1T1) -komponentti sisältää 151 kb:n koettimen, joka kattaa geenin sentromeerisen osan ja sen viereisen alueen sekä 194 kb:n koettimen, joka kattaa geenin telomeerisen osan sekä sen viereisen alueen.

### Toimitettavat materiaalit

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

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

**Vastaväri:** 150 µl pulloa kohti (15 testiä)

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

## Varoitukset ja varotoimet

- In vitro*-diagnostiseen käyttöön. Vain ammattikäyttöön laboratoriossa.
- Koetinseokset sisältävät formamideja, joka on teratogeeni: älä hengitä höyryjä sisään tai päästä ainetta kosketuksiin ihon kanssa. Käsiteltävä varoen: käytä käsineitä ja laboratoriotakkia.
- Käsittele DAPIa varoen: käytä käsineitä ja laboratoriotakkia.
- Ei saa käyttää, jos pullo on vaurioitunut tai jos pullon sisältö on voinut vahingoittua millään tavalla.
- Hävitä tämä tuote turvallisesti noudattaen hävittämistä koskevia paikallisia määräyksiä ja käyttöturvallisuustiedotteessa annettuja suosituksia. Tämä koskee myös vahingoittunutta testisarjan sisältöä.
- Hävitä kaikki käyttämätön reagenssi ja muu kontaminoitunut kertakäyttömateriaali tartuntavaarallista tai mahdollisesti tartuntavaarallista jätettä koskevien ohjeistusten mukaisesti. Kunkin laboratorion vastuulla on käsitellä kiinteää ja nestemäistä jätettä sen luonteen ja vaarallisuusasteen mukaisesti ja noudattaa sen käsittelyssä ja hävittämisessä sovellettavia määräyksiä (tai varmistaa niiden noudattaminen).
- Käyttäjien on pystyttävä erottamaan toisistaan punainen, sininen ja vihreä.
- Mikäli hahmoteltua protokollaa ei noudateta ja sen mukaisia reagensseja ei käytetä, se saattaa vaikuttaa suorituskykyyn ja johtaa virheellisiin positiivisiin/negatiivisiin tuloksiin.
- Koetinta ei saa laimentaa tai sekoittaa muiden koetinten kanssa.
- Mikäli 10 µl:n koetinta ei käytetä protokollan esidenaturaatiovaiheessa, se saattaa vaikuttaa suorituskykyyn ja johtaa virheellisiin positiivisiin/negatiivisiin tuloksiin.
- Kaikki tuotteet on validoitava ennen käyttöä.
- Sisäiset kontrollit on suoritettava käyttämällä muuttumattomia solupopulaatioita testinäytteissä.

## Lämpötilojen tarkemmat määritelmät

- 20 °C / pakastettu / pakastimessa: -25...-15 °C
- 37 °C: +37 °C ±1 °C
- 72 °C: +72 °C ±1 °C
- 75 °C: +75 °C ±1 °C
- Huoneenlämpötila: +15...+25 °C

## Säilytys ja käsittely



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



FISH-koetin, DAPI Antifade ES -vastaväri ja hybridisaatioliuos pysyvät stabiileina normaalissa käytössä tapahtuvien pakastus- ja sulatusjaksojen ajan (kun yhden jakson aikana pullo poistetaan pakastimesta ja laitetaan takaisin pakastimeen) – 5 jaksoa 50 µl:n (5 testin) pullolle FISH-koetinta, 10 jaksoa 100 µl:n (10 testin) pullolle FISH-koetinta ja 15 jaksoa 150 µl:n (15 testin) pullolle vastaväriä. Altistumista valolle on vältettävä ja minimoitava mahdollisuuksien mukaan. Säilytä komponentteja pakkauksen sisältämässä valonpitävässä säiliössä. Komponentit, joita on käytetty ja säilytetty pakkausmerkintöjen ohjeista poikkeavissa olosuhteissa, eivät välttämättä toimi odotetulla tavalla ja saattavat vääristää määrittelyn tuloksia. On ryhdyttävä kaikkiin mahdollisiin toimenpiteisiin valolle ja lämpötilan muutoksille altistumisen rajoittamiseksi.

## Tarvitvat laitteet ja materiaalit, jotka eivät sisälly pakkaukseen

Kalibroituja laitteistoja on käytettävä:

- Lämpölevy (kiinteällä levyllä ja tarkalla lämpötilan hallinnalla 80 °C:n lämpötilaan saakka)
- Kalibroidut tilavuudeltaan vaihtelevat mikropipetit ja kärjet, 1–200 µl
- Vesikylypy tarkalla lämpötilan hallinnalla 37 °C:n ja 72 °C:n lämpötilassa
- Mikrosentrifugit (0,5 ml)
- Fuoresenssimikroskoopi (katso Fluoresenssimikroskooppisuositus-osio)
- Vaihekontrastimikroskoopi
- Coplin-purkit puhdasta muovia, keramiikkaa tai lämmönkestävää lasia
- Pihdit
- Kalibroitu pH-mittari (tai pH-indikaattoriliuskat, joilla voidaan mitata 6,5–8,0:n pH-arvo)
- Kostutettu säiliö
- Fuoresenssiluokan mikroskooppilinsin immersioöljy
- Työpöytäseentrifugi
- Mikroskooppiobjektilasi
- 24 x 24 mm:n peitelasi
- Ajastin
- 37 °C:n inkubaattori
- Kumiliuosliima
- Pyörresekoitin
- Mittasylinterit
- Magneettinen sekoitin
- Kalibroitu lämpömittari

## Valinnainen laitteisto, ei sisälly pakkaukseen

- Sytogeneettinen kuivauskammio

## Tarvitvat reagenssit, jotka eivät sisälly pakkaukseen

- 20x suolaliuos-natriumsitraattiliuos (SSC)
- 100 % etanolia
- Tween-20
- 1M natriumhydroksidi (NaOH)
- 1M suolahappo (HCl)
- Akkuvesi

## Fuoresenssimikroskooppisuositus

Käytä 100 watin elohopealamppua tai vastaavaa ja öljyimmersiosuunnitelman 60/63x- tai 100x-apokromaattiobjektiveja parhaaseen mahdolliseen visualisointiin. Tässä koetinsarjassa käytettävät loisteaineet virittyvät ja säteilevät seuraavilla aaltopituuksilla:

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 kolmoiskaistanpäästösuoatinta tai vihreän spektrin/punaisen spektrin kaksoiskaistanpäästösuoatinta 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 DAPI:n sekoittamista mikroskoopin immersioöljyn kanssa, sillä se hämää signaaleita. Noudata valmistajien suosituksia lampun käyttöiän ja suodatinten iän suhteen.

## Näytteen valmistelu

Sarja on suunniteltu käytettäväksi Carnoy'n luokseen (3:1 metanoli/etikkahappo) fiksotuihin, hematologisesti johdettuihin solususpensioihin, jotka on otettu potilaita, joilla on vahvistettu tai epäilty akuutti myeloinen leukemia (AML), ja valmistettu laboratorion tai laitoksen suuntaviivojen mukaisesti. Valmistele ilmakuivatut näytteet mikroskoopin objektiivilaseille sytogeneettisten vakioimenpiteiden mukaisesti. AGT-sytogeneettikalaboratorion opaskirja sisältää suosituksia näytteen keräämisestä, viljelystä, poiminnasta ja objektiivilasiin valmistelusta<sup>6</sup>.

## 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 vastaväriin altistuminen laboratoriovaloille on aina rajallista).

### Objektiivilasin valmistelu

- Laita pisara solunäytettä mikroskooppiobjektilasille. Anna kuivua. (Valinnaista, jos käytetään sytogeneettistä kuivauskammioita: 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).
- Upota objektiivilasi 2 x SSC-liuokseen 2 minuutiksi huoneenlämpötilassa ravistamatta.
- Kuivaa kutakin etanolisarjassa (70 %, 85 % ja 100 %) 2 minuuttia huoneenlämpötilassa.
- Anna kuivua.

### Esidenaturaatio

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

### Denaturaatio

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

### 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-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 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 diagnostiisiin tarkoituksiin.
8. Suboptimaaliset olosuhteet saattavat johtaa epäspesifiseen sitoutumiseen, jotka saatetaan tulkita koetinsignaaleiksi.

### Tulosten tulkitseminen

#### Objektiivilasin laadun arviointi

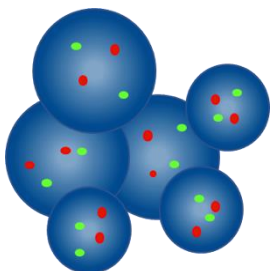
Objektiivilasia ei tarvitse analysoida, jos:

- yksittäisten suodatinten signaalit ovat liian heikkoja analysoitavaksi – jotta analyysia voidaan jatkaa, signaalien on näyttävä kirkkaina, selkeinä ja helposti arvioitavina
- analyysia vaikeuttaa suuri määrä yhteen kasautuneita / päällekkäisiä soluja
- >50 % soluista ei ole hybridisoituneita
- solujen välissä on liikaa fluoresoivia hiukkasia ja/tai fluoresoivaa utua, joka häiritsee signaaleita – optimaalisissa objektiivilaseissa taustan pitäisi näkyä tummana tai mustana ja puhtaana
- solun tuman rajoja ei voida erottaa, eivätkä ne ole eheitä.

#### Analysointiohjeet

- Kahden analyytikon pitäisi analysoida ja tulkita jokainen näyte. Kaikki eriävyydet on annettava kolmannen analyytikon arvioitavaksi.
- Jokaisella analyytikolla on oltava sopiva pätevyys tunnustettujen kansallisten standardien mukaan.
- Jokaisen analyytikon pitäisi saada riippumattomasti 10 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 suodatintumia 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

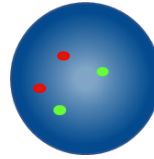


Älä laske – tumat ovat liian lähellä, jotta rajoja voisi määrittää

	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 signaalileveyttä

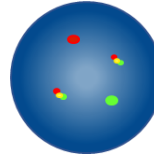
#### Odottavissa olevat tulokset

##### Odottavissa oleva normaali signaalikuvi



Tavallisessa solussa on odottavissa kaksi punaista ja kaksi vihreää signaalia (2P2V).

##### Odottavissa oleva epänormaali signaalikuvi



Solussa, jossa on translokaatio t(8;21)(q21.3;q22.12), odottavissa oleva signaalikuvi on yksi punainen, yksi vihreä ja kaksi fuusiota (1P1V2F).

Muut signaalikuviot ovat mahdollisia aneuploidisissa/epätasapainoissa näytteissä.

#### Tunnetut olennaiset häiriöt / häiritsevät aineet

Ei tunnettuja olennaisia häiriöitä / häiritseviä aineita.

#### Tunnettu ristireaktiivisuus

Ei tunnettua ristireaktiivisuutta.

#### Vakavista vaaratilanteista ilmoittaminen

Potilaan / käyttäjän / kolmannen osapuolen, joka on Euroopan unionissa tai maassa, jossa on vastaava säädös (asetus (EU) 2017/746 *in vitro*-diagnostisista lääkinnällisistä laitteista), on ilmoitettava valmistajalle ja kansalliselle toimivaltaiselle viranomaiselle, mikäli tämän laitteen käytön aikana tai sen käytön seurauksena tapahtuu vakava vaaratilanne.

Muissa maissa tapahtuneista vakavista vaaratilanteista on ilmoitettava valmistajalle ja soveltuvin osin kansalliselle toimivaltaiselle viranomaiselle.

Valmistajan yhteystiedot vaaratilanteissa: [vigilance@ogt.com](mailto:vigilance@ogt.com)

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

[https://health.ec.europa.eu/medical-devices-sector/new-regulations/contacts\\_en](https://health.ec.europa.eu/medical-devices-sector/new-regulations/contacts_en)

#### Erityiset suorituskykyominaisuudet

##### Analyttinen spesifisyys

Analyttinen spesifisyys on prosenttiosuus signaaleista, jotka hybridisoituvat oikeaan lokukseen eikä muihin sijainteihin. Analyttinen spesifisyys määritettiin analysoimalla yhteensä 400 kohdelokusta. Kaksi kromosomin lokusta jokaisessa 20 metafaasisolussa analysoidiin viidestä näytteestä, jolloin saatiin 400 tietopistettä. Analyttinen spesifisyys laskettiin sellaisten FISH-signaalien määräksi, jotka hybridisoituvat oikeaan lokukseen jaettuna hybridisoituneiden FISH-signaalien kokonaismäärällä.

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

Taulukko 1. AML1/ETO (RUNX1/RUNX1T1) Translocation, Dual Fusion Probe -koettimen analyttinen spesifisyys

Koetin:	Kohde	Hybridisoituneiden metafaasikromosomien lukumäärä	Oikein hybridisoituneiden lokusten lukumäärä	Analyttinen spesifisyys (%)	95 %:n luottamusväli (%)
AML1, punainen	21q22.1	200	200	100	98,12–100
ETO, vihreä	8q21.3	200	200	100	98,12–100

#### Analyttinen herkkyys

Analyttinen herkkyys on niiden tulosten laskennassa käytettävien interfaasisolujen prosenttiosuus, joiden odotettavissa oleva signaalikuviot on normaali. Vähintään 200 interfaasisolua analysoitiin jokaisesta 25 luuydinsolususpensiosta, jotka oli fiksoitu Carnoyn liukeseen ja katsottu karyotyypiltään normaaleiksi, jolloin saatiin vähintään 5000 tumaa näytettyypäiä kohden. Herkkyystiedot analysoitiin niiden solujen prosenttimäärän perusteella, jotka osoittivat normaalia odotettavissa olevaa signaalikuviota, ja tulos ilmaistiin prosenttiosuudella sekä 95 prosentin luottamusväillä.

Taulukko 2. AML1/ETO (RUNX1/RUNX1T1) Translocation, Dual Fusion Probe -koettimen analyttinen herkkyys

Sellaisten solujen määrä, joilla on odotettavissa olevat signaalikuviot	Sellaisten solujen kokonaismäärä, joilla on tulosten laskennassa käytettävät signaalit	Analyttinen herkkyys (%)	95 %:n luottamusväli (%)
4965	5000	99,3	99,02, 99,58

#### Normaalien raja-arvojen luokittelu

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

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

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

Taulukko 3. AML1/ETO (RUNX1/RUNX1T1) Translocation, Dual Fusion Probe -koettimen normaalien raja-arvojen luokittelu

Epänormaali signaalikuviot	Raja-arvon määrittämisessä analysoitujen näytteiden lukumäärä	Näytettä kohden analysoitujen tumien lukumäärä	Väärin positiivisten signaalikuvioiden suurin lukumäärä	Normaali raja-arvo (%)
1P1V2F	1290	200	1	2,3

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

#### Uusittavuus

Uusittavuustutkimuksilla selvitetiin

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

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

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

Uusittavuus laskettiin käyttäen kunkin testin aikana tutkittujen muuttujien yhtäpitävyyttä.

Taulukko 4. AML1/ETO (RUNX1/RUNX1T1) Translocation, Dual Fusion Probe -koettimen uusittavuus

Tutkimus	Kriteerit	Tulos
Päivän sisäinen / päivien välinen / kohteiden välinen	90 %:n yhtäpitävyyden negatiivinen luokka	100 %
	95 %:n yhtäpitävyyden vahvasti positiivinen luokka	100 %
Erien välinen	90 %:n yhtäpitävyyden negatiivinen luokka	100 %
	95 %:n yhtäpitävyyden vahvasti positiivinen luokka	100 %

#### Kliininen suorituskyky

Sen määrittämiseksi, havaitseeko AML1/ETO (RUNX1/RUNX1T1) Translocation Dual Fusion Probe -koetin aiottuja uudelleenjärjestymiä, kliininen suorituskyky määritettiin suorittamalla viisi tutkimusta edustaville otoksille tuotteen aiottuun populaatioista: 3:1 metanoli/etikahappofiksatiivilla fiksoidusta jäännösmateriaalista. Tutkimusten kaikkien kohteiden yhdistetyn otannan koko yhteensä oli kuusisataakolmekymmentäneljä (634) näytettä, joista kolmekymmentäviisi (35) oli positiivisia ja viisisataayhdeksänkymmentäyhdeksän (599) negatiivisia näytteitä. Tulosten yhdenmukaisuuden/ristiriitaisuuden todettiin täyttävän tutkimuksen hyväksyntäkriteerit.

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

Taulukko 5. AML1/ETO (RUNX1/RUNX1T1) Translocation, Dual Fusion Probe -koettimen kliininen suorituskyky

Muuttuja	Tulos
Kliininen herkkyys (oikeiden positiivisten osuus, TPR)*	99,74 %
Kliininen spesifisyys (oikeiden negatiivisten osuus, TNR)*	99,90 %
Väärin positiivisten osuus (FPR) = 1 – spesifisyys*	0,10 %

#### Yhteenveto turvallisuudesta ja suorituskyvystä (SSP)

SSP tulee yleisön saataville eurooppalaisen lääkinällisten laitteiden tietokannan (Eudamed) kautta, mistä se on haettavissa Basic UDI-DI -tunnisteella.

Eudamedin URL-osoite: <https://ec.europa.eu/tools/eudamed>  
Basic UDI-DI: 50558449LPH026JH

Jos Eudamed ei ole täysin toiminnallinen, SSP saatetaan yleisön saataville pyynnöstä sähköpostitse osoitteeseen [SSP@oqt.com](mailto:SSP@oqt.com).

#### Lisätietoja

Tuotteita koskevia lisätietoja on saatavilla ottamalla yhteyttä CytoCell teknisen tuen osastoon.3-site Inter

Puh.: +44 (0)1223 294048

Sähköposti: [techsupport@cytoCELL.com](mailto:techsupport@cytoCELL.com)















Verkkosivut: [www.oqt.com](http://www.oqt.com)

#### Viitteet

- 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.
- Grimwade, *et al.* Blood. 2001;98(5):1312-1320.
- Harrison, *et al.* Journal of Clinical Oncology. 2010;28(16):2674-2681.
- Grimwade, *et al.* Blood. 2010;116(3):354-365.
- 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.



## Symbolisanasto

EN ISO 15223-1:2021 – ”Lääkinnälliset laitteet – Valmistajan toimittamissa tiedoissa käytettävät symbolit. Osa 1: Yleiset vaatimukset” (© International Organization for Standardization)		
Symboli	Nimike	Viitenumero(t)
	fi: Valmistaja	5.1.1
	fi: Valtuutettu edustaja Euroopan yhteisön / Euroopan unionin alueella	5.1.2
	fi: Käytön eräpäivä	5.1.4
	fi: Eräkoodi	5.1.5
	fi: Kuvastonumero	5.1.6
	fi: Pidettävä poissa auringonvalosta	5.3.2
	fi: Lämpötilaraja	5.3.7
	fi: Tutustu käyttöohjeisiin	5.4.3
 ogt.com/IFU	fi: Tutustu sähköisiin käyttöohjeisiin	5.4.3
	fi: Huomio	5.4.4
	fi: <i>In vitro</i> -diagnostinen lääikinnällinen laite	5.5.1
	fi: Riittävä sisältö <n> testiin	5.5.5
	fi: Yksilöllinen laitetunniste	5.7.10
IVD-reagensseja ja -osia koskevat EDMA-symbolit, lokakuun 2009 versio		
Symboli	Nimike	Viitenumero(t)
	fi: Sisältö (tai sisältää)	–

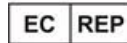
## Patentit ja tavaramerkit

CytoCell on CytoCell Limited -yhtiön rekisteröity tavaramerkki.



**CytoCell Limited**  
Oxford Gene Technology  
418 Cambridge Science Park  
Milton Road  
CAMBRIDGE  
CB4 0PZ  
YHDISTYNYT KUNINGASKUNTA

Puh.: +44 (0)1223 294048  
F: +44 (0)1223 294986  
Sähköposti: [probes@cytoCell.com](mailto:probes@cytoCell.com)  
Verkkosivut: [www.ogt.com](http://www.ogt.com)



**Sysmex Europe SE**  
Bombarch 1  
22848 Norderstedt  
SAKSA

Puh.: +49 40 527260  
Verkkosivut: [www.sysmex-europe.com](http://www.sysmex-europe.com)

## Käyttöohjeen versiohistoria

V001.00 2023-01-11: Uusi käyttöohje asetuksen (EU) 2017/746 vuoksi.