



A Sysmex Group Company



## Käyttöohje

REF: CE-LPH 089-S / CE-LPH 089

### CBFB Breakapart Probe



VAIN AMMATTIKÄYTTÖÖN



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

#### Käyttötarkoitus

CytoCell® CBFB Breakapart Probe irrotettava koetin on kvalitatiivinen, ei-automatisoitu FISH (fluorescence *in situ* hybridisation) -testi, jota käytetään kromosomien uudelleenjärjestymien havaitsemiseen kromosomin 16 alueella 16q22 Carnoy'n liuokseen (3:1 metanoli/etikahappo) fiksoiduille, hematologisesti johdetuille solususpensioille potilaita, joilla on vahvistettu tai epäilty akuutti myeloinen leukemia (AML).

#### Käyttöaiheet

Tämä tuote on suunniteltu käytettäväksi muiden kliinisten ja histopatologisten testien lisäksi vakiintuneissa diagnostiikan ja kliinisen hoidon hoitopoluissa, joissa CBFB-uudelleenjärjestymän tilan tunteminen olisi tärkeää kliiniselle hoidolle.

#### Rajoitukset

Laitte on suunniteltu havaitsemaan uudelleenjärjestymiä, joissa on katkoskohtia tämän koetinsarjan punaisten ja vihreiden kloonien sitomilla alueilla, joihin sisältyy CBFB-geeni. Tämä tuote 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 pätevyyden saaneen henkilöstön tekemän FISH-tulosten raportoinnin ja tulkin 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 laboratoriotarkoitukseen.

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-koettimeen, jolla on täydentävä sekvenssi. Hybridisaation jälkeen sitomaton ja muu kuin spesifisesti sidottu DNA-koetin poistetaan, ja DNA vastaväritään

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

#### Koettimen tiedot

CBFB (core-binding factor subunit beta) -geeni sijaitsee alueella 16q22; sen uudelleenjärjestymä on useimmiten seurausta inversiosta inv(16)(p13.1q22) tai translokaatiosta t(16;16)(p13.1;q22). Alueen 16q22 translokaatioita useilla muilla geenikumpaneilla on raportoitu harvoin, ja raidan 16q22 deleetiosta on myös raportoitu<sup>1</sup>.

Akuutti myeloinen leukemia, johon liittyy CBFB::MYH11 inv(16)(p13.1q22)- tai t(16;16)(p13.1;q22)-translokaatiosta, muodostaa tunnistetun tautikokonaisuuden Maailman terveysjärjestön (WHO) myelooisten neoplasmien ja akuuttien leukemoiden luokituksen mukaisesti<sup>2</sup>. Näitä uudelleenjärjestymiä tavataan usein myelomonosyyttisen alatyypin potilailla, joiden luuytimen eosinofiilit ovat lisääntyneet, ja sitä löytyy 5–8 prosentissa<sup>2</sup> kaikista AML-tapauksista. Tätä uudelleenjärjestymää voi myös ilmetä hoitoon liittyvissä AML-tapauksissa<sup>2,3</sup>.

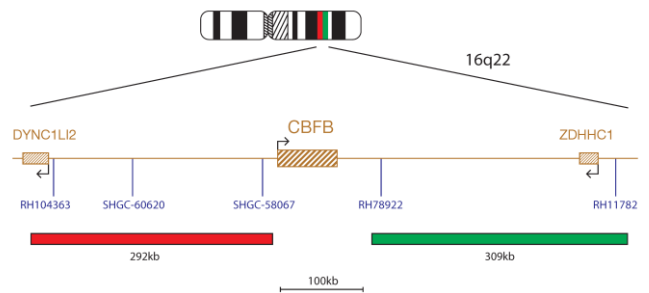
Inversio inv(16)(p13.1q22) tai translokaatio t(16;16)(p13.1;q22) tuottaa CBFB::MYH11-geenin uudelleenjärjestymiä, ja ne luokitellaan suotuisaksi sytogeneettiseksi riskiryhmäksi potilailla, joilla on AML<sup>4,5,6</sup>.

#### Koettimen tekniset tiedot

CBFB, 16q22, punainen

CBFB, 16q22, vihreä

CMP-H098 v001.00



CBFB Breakapart Probe -seos koostuu kahdesta erillisestä koettimesta. Punainen koetin (292 kb) on sentromeerinen CBFB-geeniin nähden ja ulottuu RH104363-markkerin yli peittämään osan DYNC1LI2-geeniä ja sisältää markerit SHGC-60620 ja SHGC-58067. Vihreä koetin (309 kb) on telomeerinen CBFB-geeniin nähden ja ulottuu markerin RH78922 läpi ja ZDHHC1-geeniin yli alueelle, joka on telomeerinen markeriin RH11782 nähden.

#### 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-fenyli-indoli) glyserolipohjaisessa preparointiaineessa).

#### Varoitukset ja varoitimet

- In vitro*-diagnostiseen käyttöön. Vain ammattikäyttöön laboratoriossa.
- Koetinseokset sisältävät formamidia, 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.
- Hävitätä tämä tuote turvallisesti noudattaen hävittämistä koskevia paikallisia määräyksiä ja käyttöturvallisuustiedotteessa annettuja suosituksia. Tämä koskee myös vahingoittunutta testisarjan sisältöä.
- Hävitätä 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 määrittämisen tuloksia. Valolle ja lämpötilan muutoksille altistumista on rajoitettava kaikin mahdollisin keinoin.

## Tarvittavat laitteet ja materiaalit, jotka eivät sisälly pakkaukseen

Kalibroituja laitteistoa 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
- Mikrosentrifugiputket (0,5 ml)
- Fuoresenssimikroskooppi (katso Fluoresenssimikroskooppisuositus-osio)
- Vaihekontrastimikroskooppi
- 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 mikroskooppilinnin immersioöljy
- Työpöytäsentrifugi
- 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

## Tarvittavat reagenssit, jotka eivät sisälly pakkaukseen

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

## Fuoresenssimikroskooppisuositus

Käytä 100 watin elohopealampua tai vastaavaa ja öljymimmersiosuunnitelman 60/63x- tai 100x-apokromaattiojektiveja parhaaseen mahdolliseen visualisointiin. Tässä koetinsarjassa käytettävät loisteaineet virittyvät ja säteilevät seuraavilla aallonpituuksilla:

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 aallonpituuudet.

Käytä DAPI- / vihreän spektrin / punaisen spektrin kolmoisikaistanpäästösuodatinta tai vihreän spektrin / punaisen spektrin kaksoisikaistanpäästösuodatinta vihreän ja punaisen loisteaineen optimaaliseen samanaikaiseen visualisointiin.

Tarkista fluoresenssimikroskooppi ennen käyttöä varmistaaksesi, että se toimii asianmukaisesti. Käytä immersioöljyä, joka soveltuu fluoresenssimikroskooppille ja jonka koostumus on tarkoitettu alhaiselle automaattiselle fluoresenssille. Vältä häipymistä 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 Carnoy'n liuosfiksatiiviin (3:1 metanoli/etikahappo) fiksoituihin, hematologisesti johdettuihin solususpensioihin, jotka on valmisteltu laboratorion tai laitoksen suuntaviivojen mukaisesti. Valmistele

ilmakuivatut näytteet mikroskoopin objektiivilaseille sytogeneettisten vakioitomenpiteiden mukaisesti. AGT-sytogenetiikkalaboratorion opaskirja sisältää suosituksia näytteen keräämisestä, viljelystä, poiminnasta ja objektiivilasiens valmistelusta<sup>7</sup>.

## Liuosien valmistus

### Etanoliliuokset

Laimenna 100-prosenttinen etanoli akkuviedellä seuraavissa suhteissa ja sekoita huolellisesti:

- 70 % etanolia – 7 osaa 100-prosenttistä etanolia ja 3 osaa akkuvettä
- 85 % etanolia – 8,5 osaa 100-prosenttistä 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 suolahappoa 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 suolahappoa tarpeen mukaan. Säilytä liuosta enintään 4 viikkoa huoneenlämpötilassa ilmatiiviissä säiliössä.

### 2 x SSC, 0,05-prosenttinen 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 suolahappoa 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. (Vainnaista, 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 solunäyteelle ja aseta peitelasi varoen paikalleen. Sulje kumiliuosliimalla ja anna liiman kuivua täysin.

### Denaturaatio

- Denaturoi näyte ja koetin samanaikaisesti kuumentamalla objektiivilasia lämpölevyllä 2 minuutin ajan 75 °C:n (+/- 1 °C) lämpötilaan.

### Hybridisaatio

- Laita objektiivilasi yöksi kosteaan valonkestävään säiliöön 37 °C:n (+/- 1 °C) lämpötilaan.

### Hybridisaation jälkeiset pesut

- Poista DAPI pakastimesta ja anna sen lämmetä huoneenlämpötilaan.
- Poista peitelasi ja kaikki liimajäljet huolellisesti.
- Upota objektiivilasi 0,4 x SSC-liuokseen (pH 7,0) 2 minuutiksi 72 °C:n (+/- 1 °C) lämpötilassa ravistamatta.
- Tyhjennä objektiivilasi ja upota se 30 sekunniksi 2 x SSC:tä ja 0,05 % Tween-20:tä sisältävään liuokseen huoneenlämpötilassa (pH 7,0) ravistamatta.
- Tyhjennä objektiivilasi ja laita kuhunkin näytteeseen 10 µl häipymistä ehkäisevää DAPIn.
- Peitä peitelasilla, poista mahdolliset kuplat ja anna värin kehittyä pimeässä 10 minuuttia.
- Tarkastele fluoresenssimikroskooppilla (katso **Fuoresenssimikroskooppisuositus**).

### Toimenpidesuosituksukset

- Objektiivilasiens sintraaminen tai ikäännyttäminen saattaa heikentää signaalien fluoresenssia.
- Muiden kuin Cytocell Ltd. -yhtiön toimittamien tai suosittelemien reagenssien käyttö saattaa vaikuttaa haitallisesti hybridisaatio-olosuhteisiin.
- Käytä liuosten, vesikylypyjen ja inkubaattorien lämpötilojen mittaukseen kalibroituja lämpömittaria, sillä nämä lämpötilat ovat ratkaisevan tärkeitä tuotteen optimaalisen suorituskyvyn kannalta.

- Pesupitoisuudet, pH-arvo ja lämpötilat ovat tärkeitä, sillä liiallinen löyhyys saattaa johtaa koettimen epäspesifiseen sitoutumiseen ja liiallinen ankaruus signaalin puuttumiseen.
- Epätäydellinen denaturaatio saattaa johtaa signaalin puuttumiseen ja liiallinen denaturaatio saattaa myös johtaa epäspesifiseen sitoutumiseen.
- Liiallinen hybridisaatio saattaa johtaa ylimääräisiin tai odottamattomiin signaaleihin.
- Käyttäjien on optimoitava omien näytteidensä protokolla ennen testin käyttöä diagnostiisiin tarkoituksiin.
- Suboptimaaliset olosuhteet saattavat johtaa epäspesifiseen sitoutumiseen, jotka saatetaan tulkita koetinsignaaleiksi.

#### Tulosten tulkitseminen

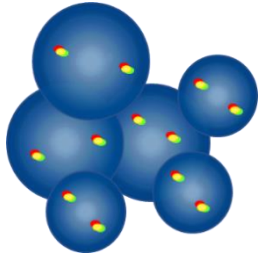
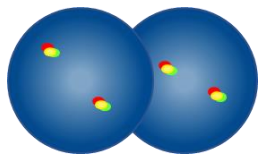
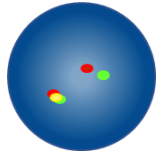
##### Objektiivilasin laadun arviointi

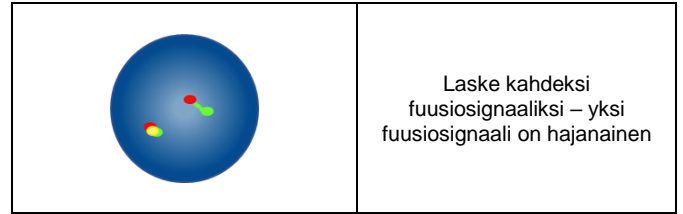
Objektiivilasia ei tarvitse analysoida, jos:

- yksittäisten suodatinten signaalit ovat liian heikkoja analysoitavaksi – jotta analyysia voidaan jatkaa, signaalin on näyttävä kirkkaina, selkeinä ja helposti arvioitavana
- 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

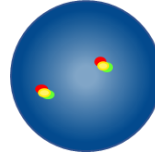
- Kahden analyytikon pitäisi analysoida ja tulkita jokainen näyte. Kaikki eriävyydet on annettava kolmannen analyytikon arvioitavaksi.
- Jokaisella analyytikolla on oltava sopiva pätevyys tunnustettujen kansallisten standardien mukaan.
- Jokaisen analyytikon pitäisi saada riippumattomasti 100 tumaa kustakin 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 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.
- Analysoitaessa kaksivärisiä irrotettavia koettimia signaalit on laskettava muiksi kuin uudelleenjärjestellyiksi/fuusioituneiksi, jos punaisen ja vihreän signaalin välinen rako on enintään 2 signaalileveyden 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 fuusiosignaaleiksi – punaisen ja vihreän signaalin välinen rako on enintään kahden signaalileveyden kokoinen



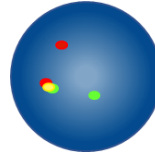
##### Odotettavissa olevat tulokset

Odotettavissa oleva normaali signaalikuvio



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

Odotettavissa olevat epänormaalit signaalikuviot



Jos solussa on balansoitunut CBF- uudelleenjärjestelmä, odotettavissa oleva signaalikuvio on yksi punainen/vihreä fuusio, yksi punainen ja yksi vihreä (1F1P1V).

Muut signaalikuviot ovat mahdollisia aneuploidisissa/epätasapainoisissa 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 lääkinneiläisistä 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 niiden signaalien prosenttiosuus, jotka hybridisoituvat oikeaan lokukseen eikä muihin sijainteihin. Neljä kromosomin lokusta jokaisessa kahdessakymmenessä metafaasisolussa analysoitiin kustakin viidestä näytteestä, jolloin saatiin 400 tietopistettä. Jokaisen hybridisoituneen koettimen paikka kartoitettiin, ja oikeaan lokukseen hybridisoituneiden metafaasikromosomien FISH-signaalien lukumäärä kirjattiin.

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

Taulukko 1. CBF- Breakpart Probe -koettimen analyttinen spesifisyys

Kohde	Hybridisoituneiden metafaasikromosomien lukumäärä	Oikein hybridisoituneiden lokusten lukumäärä	Analyttinen spesifisyys	95 %-n luottamusväli
16q22	200	200	100 %	98,12–100 %
16q22	200	200	100 %	98,12–100 %

##### Analyttinen herkkyys

Analyttinen herkkyys on niiden tulosten laskennassa käytettävien interfaasisolujen prosenttiosuus, joiden odotettavissa oleva signaalikuvio on normaali. Vähintään 200 interfaasisolua analysoitiin jokaisesta 25 fiksoidusta luuydinäyttesolususpensiosta, ja ne katsottiin negatiivisiksi CBF- uudelleenjärjestymän osalta, jolloin saatiin vähintään 5 000 tumaa näytetyypin kohden. Herkkyystiedot analysoitiin niiden solujen prosentimäärän perusteella,

jotka osoittivat normaalia odotettavissa olevaa signaalikuviota, ja tulos ilmaistiin prosenttiosuudella sekä 95 prosentin luottamusväillä.

Taulukko 2. CBFB Breakapart Probe -koettimen analyttinen herkkyys

Näytteen tyyppi	Herkkyuden kriteerit	Herkkyuden tulos
Luuydin	> 95 %	97,92 % (97,59 %–98,25 %)

#### Normaalien raja-arvojen luokittelu

Normaaliksi raja-arvoksi määritettiin niiden solujen prosenttiosuus, joissa esiintyi väärä positiivinen signaalikuviota, jolloin henkilöä pidettäisiin normaalina eikä kliinisen diagnoosin mukaisena. Vähintään 200 interfaasisolua analysoitiin jokaisesta 25 fiksoidusta luuydinsolususpensiosta, jolloin saatiin vähintään 5 000 tumaa näytetyypin kohden.

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

Taulukko 3. CBFB Breakapart Probe -koettimen normaalien raja-arvojen luokittelu

Näytteen tyyppi	Raja-arvojen tulos
Luuydin	3,08 %

Laboratorioiden on tarkistettava raja-arvot käyttäen omia tietojaan<sup>8,9</sup>.

#### Tarkkuus

Tämän tuotteen tarkkuus on mitattu päivän sisäisellä tarkkuudella (näytteiden kesken), päivien välisellä tarkkuudella (päivien kesken) sekä yhden kohteen erien välisellä tarkkuudella (erien kesken).

Tämän tuotteen tarkkuus arvioitiin kahdella näytteellä: negatiivisella luuydinnäytteellä ja yhdistetyllä heikosti positiivisella luuydinnäytteellä (2–4x tuotteen raja-arvo, joka on luotu terästäällä normaali luuydinnäyte tunnetulla positiivisella), jota käytettiin tuotteen haastamiseen määritetyn raja-arvon ympärille.

Päivien välisen ja päivän sisäisen tarkkuuden määrittämiseksi näytteet arvioitiin viiden ei-peräkkäisen päivän ajalta. Erien välisen tarkkuuden määrittämiseksi kolme tuote-erää arvioitiin neljästä saman näytteen replikaatista. Tulokset esitettiin yleisenä yhtäpitävyytenä ennakoitujen negatiivisten luokan kanssa (negatiivisten näytteiden osalta).

Taulukko 4. CBFB Breakapart Probe -koettimen uusittavuus ja tarkkuus

Muuttuja	Näytteen tyyppi	Yhtäpitävyys
Päivän sisäinen (näytteestä toiseen) ja päivien välinen (päivästä toiseen) uusittavuus	Luuydin, negatiivinen	100 %
	Luuydin, heikosti positiivinen	100 %
Erien välinen uusittavuus	Luuydin, negatiivinen	100 %
	Luuydin, heikosti positiivinen	100 %

#### Kliininen suorituskyky

Sen määrittämiseksi, havaitseeko tuote aiottuja uudelleenjärjestyksiä, kliininen suorituskyky määritettiin suorittamalla kaksi tutkimusta edustaville otoksille tuotteen aiotusta populaatioista: 3:1 metanoli-/etiikkahappofiksatiivilla fiksoidusta materiaalista, joka oli peräisin tunnistamattomaksi tehdystä hematologisesti johdetuista näytteistä. Kummassakin tutkimuksessa otoskoko oli satakolmeista (113) näytettä, ja kohdepopulaatio oli kaksikymmentä (20) positiivista luuydinnäytettä ja yhdeksänkymmentäkolme (93) negatiivista luuydinnäytettä. Kaikki näytteet tehtiin tunnistamattomiksi ja satunnaistettiin analyysiharjojen välttämiseksi. Tuloksia verrattiin näytteen tunnettuun tilaan. Tulosten yhdenmukaisuuden/ristiriitaisuuden todettiin täyttävän näiden tutkimusten hyväksyntäkriteerit.

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

Taulukko 5. CBFB Breakapart Probe -koettimen kliininen suorituskyky

Muuttuja	Tulos
Kliininen herkkyys (oikeiden positiivisten osuus, TPR) *	99,42 %
Kliininen spesifisyys (oikeiden negatiivisten osuus, TNR) *	99,84 %
Väärin positiivisten osuus (FPR) = 1 – spesifisyys*	0,16 %

#### Yhteenveto turvallisuudesta ja suorituskyvystä (SSP)

SSP tulee yleisön saataville eurooppalaisen lääkinnällisten laitteiden tietokannan (Eudamed) kautta, mistä se on haettavissa Basic UDI-DI -tunnisteella. Eudamedin URL-osoite: <https://ec.europa.eu/tools/eudamed>  
Basic UDI-DI: 50558449LPH089K9

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

#### Lisätietoja

Tuotteita koskevia lisätietoja on saatavilla ottamalla yhteyttä CytoCell-yhtiön teknisen tuen osastoon.

Puh.: +44 (0)1223 294048

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

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

#### Viitteet

- Huret JL. Atlas Genet Cytogenet Oncol Haematol. 1999; 3(3):147-149.
- WHO Classification of Tumours Editorial Board. Haematolymphoid tumours [Internet; beta version ahead of print]. Lyon (France): International Agency for Research on Cancer; 2022 [cited 2023 April 28]. (WHO classification of tumours series, 5th ed.; vol. 11). Available from: <https://tumourclassification.iarc.who.int/chapters/63>
- Hernández JM, et al. Haematologica. 2000; 85(5):481-5.
- Moreno-Miralles I, et al. J Biol Chem. 2005;280(48):40097-103.
- Grimwade D, et al. Blood. 2010;116(3):354-365.
- Litzow MR. Haematologica. 2020;105(6):1475-77.
- Arsham, MS., Barch, M.J. 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
	fi: Tutustu sähköisiin käyttöohjeisiin <a href="http://ogt.com/IFU">ogt.com/IFU</a>	5.4.3
	fi: Huomio	5.4.4
	fi: <i>In vitro</i> -diagnostinen lääkinnällinen 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.oqt.com](http://www.oqt.com)



#### **Sysmex Europe SE**

Bornbarch 1  
22848 Norderstedt  
SAKSA

Puh.: +49 40 527260

Verkkosivut: [www.sysmex-europe.com](http://www.sysmex-europe.com)

#### Käyttöohjeen versiohistoria

V001.00/2023-05-10 Uusi käyttöohje asetuksen (EU) 2017/746 vuoksi