



A Sysmex Group Company



## Käyttöohje

REF: LPH 016-S / LPH016

## MYB Deletion 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 genomien puutteita suuremmalta alueelta kuin tämän koetin sarjan punaisen kloonin kattama alue, johon sisältyy MYB-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 laboratoriokäyttöön; soveltuvan pätevyyden saaneen henkilöstön on tulkittava kaikki tulokset ottaen huomioon muut asiaankuuluvat testitulokset.

Tätä tuotetta ei ole validoitu käytettäväksi sellaisen näyte- tai tautityyppien kohdalla, joita ei ole määritetty aiotussa käyttöarkoituksessa.

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 MYB Deletion Probe-koetin on kvalitatiivinen, ei-automatisoitu FISH (fluorescence *in situ* hybridisation) -testi, jota käytetään kromosomien uudelleenjärjestymien havaitsemiseen kromosomin 6 alueella 6q23.3 Carnoyn liuokseen (3:1 metanoli/etikkahappo) fiksatoituille, hematologisesti johdetuille solususpensioille potilaita, joilla on vahvistettu tai epäilty akuutti lymfaattinen leukemia (ALL), krooninen lymfaattinen leukemia (CLL) tai non-Hodgkin-lymfooma (NHL).

### Käyttöaiheet

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

### 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-raita-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 denaturoituu, fluoresenssimerkittyyn DNA-koettimeen, jolla on täydentävä sekvenssi. Hybridisaation jälkeensitomaton ja muu kuin spesifisesti sidottu DNA-koetin poistetaan, ja DNA vastavärijätään visualisointia varten. Sen jälkeen hybridisoitu koetin voidaan visualisoida fluoresenssimikroskopian avulla kohdemateriaalissa.

### Koettimen tiedot

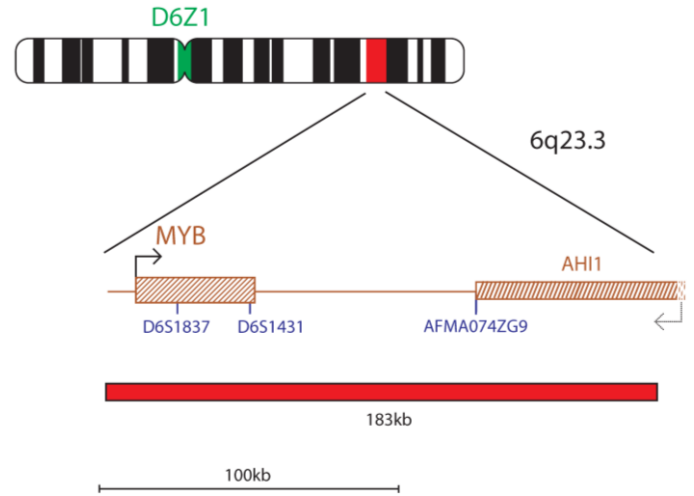
MYB (*MYB-proto-onkogeneeni, transkriptiotekijä*) paikassa 6q23.3 on hematopoeesin kannalta olennainen transkriptiotekijä<sup>1</sup>.

Kromosomin 6 pitkä varsi (6q) liittyy usein kromosomipoikkeavuuksiin, joista aiheutuu ihmisten syöpiä, hematologiset maligniteetit mukaan lukien<sup>1</sup>. Kromosomin 6q deleetioita esiintyy akuutissa lymfaattisessa leukemiassa (ALL), kroonisessa lymfaattisessa leukemiassa (CLL) sekä korkean maligniteettiasteen nodulaarisessa ja ekstranodaalisessa B-solulymfoomassa, mutta myös rinnan karsinoomassa, melanoomassa, munasarjojen karsinoomassa ja munuaisen adenokarsinoomassa<sup>2,3</sup>.

Lisäksi uudelleenjärjestymiä, joissa on MYB, on raportoitu T-ALL-tapauksissa, esimerkiksi translokaatio t(6;7)(q23;q34), jossa on mukana TRB, on havaittavissa noin 6 prosentilla potilaista, ja MYB-lokuksen fokaalisia duplikaatioita, joita nähdään noin 10 prosentilla potilaita<sup>1,4</sup>.

### Koettimen tekniset tiedot

MYB, 6q23.3, punainen  
D6Z1, 6p11.1-q11.1, vihreä



MYB-koetinseoksessa on punaisella leimattu 183 kb:n koetin, joka kattaa koko MYB-geenin sekä geenin telomeerisen alueen, johon sisältyy AH11-geenin sentromeerinen osa. Koetinseoksessa on myös vihreällä leimattu kontrollikoetin 6 sentromeerille (D6Z1).

### 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 käsiineitä 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 käsiineitä ja laboratoriokatkkaa.
4. DAPI on potentiaalinen karsinogeeni. Käsiteltävä varoen: käytä käsiineitä ja laboratoriokatkkaa.
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 °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 Tarvitvat mutta pakkaukseen sisällymättömät

DS069/CE-fi v010.00/2020-12-01 (H037 v2)

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. Ajastin
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 <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 käyttöön ja suodatinten iän suhteen.

#### Näytteen valmistelu

Sarja on suunniteltu käytettäväksi hematologisesti johdettuihin solususpensioihin, jotka on fiksatoitu Carnoy'n liuosfiksatiiviin (3:1 metandi/etikkahappo), jotka on valmistettu laboratorion tai laitoksen suuntaviivojen mukaisesti. Valmistele ilmakuivatut näytteet mikroskoopin objektiivilaseille sytogeneettisten vakioitimenpiteiden mukaisesti. AGT-sytogenetiikkalaboratorion opaskirja sisältää suosituksia näytteen keräämisestä, viljelystä, poiminnasta ja objektiivilasin valmistelusta<sup>5</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 vastavärin altistuminen laboratorioalolle on aina rajallista).

#### Objektiivilasin valmistelu

1. Laita pisara solunäytettä mikroskooppiobjektilasille. Anna kuivua. **(Vaihtoehtoisesti, jos käytetään sytogeneettistä kuivauskammioa:** mikroskooppiobjektilaseille on asetettava pisara näytettä sytogeneettisen kuivauskammion avulla. Kammioita 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 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 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 väriin kehittyä pimeässä 10 minuuttia.
18. Tarkastele fluoresenssimikroskoopilla (Katso **Fluoresenssimikroskooppisuositus**).

#### Valmiiden objektiivilasin vakaus

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

#### Toimenpidesuosituksukset

1. Objektiivilasin 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 lämpömittareita, 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

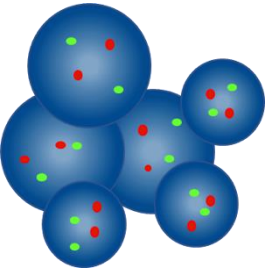
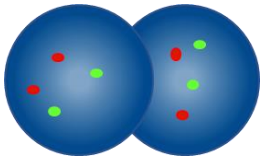
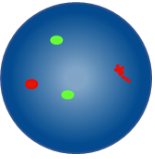
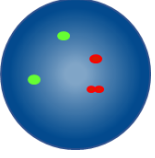
##### Objektiivilasin laadun arviointi

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 tuman rajoja ei voida erottaa, eivätkä ne ole eheitä

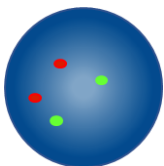
## Analysointiohjeet

- Kahden analytiikon pitäisi analysoida ja tulkita jokainen näyte. Kaikki eriävyydet on annettava kolmannen analytiikon arvioitavaksi
- Jokaisella analytiikolla on oltava sopiva pätevyys tunnustettujen kansallisten standardien mukaan.
- Jokaisen analytiikon pitäisi saada riippumattomasti 100 tumaa kustakin näytteestä. Ensimmäisen analytiikon pitäisi käynnistää analyysi objektiivilasin vasemmalta puolelta ja toisen analytiikon oikealta puolelta
- Kunkin analytiikon 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 säädiä 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 signaalileveyttä

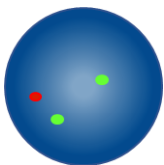
## Odotettavissa olevat tulokset

### Odotettavissa oleva normaali signaalikuvio



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

### Odotettavissa oleva epänormaali signaalikuvio



Solussa, jossa on MYB-deleetio, odotettavissa oleva signaalikuvio on yksi punainen ja kaksi vihreää signaalia (1P, 2V).

Muut signaalikuviot ovat mahdollisia aneuploidisissa / epätasapainoisissa näytteissä.

## Tunnettu ristireaktiivisuus

Ei tunnettua ristireaktiivisuutta.

## Haittatapahtumista raportointinen

Jos uskot, että tässä laitteessa on ilmennyt toimintahäiriö tai että sen suorituskykyominaisuuksissa on tapahtunut huononemista, joka on saattanut myötävaikuttaa haittatapahtumaan (esim. viivästynyt tai virheellinen diagnoosi, viivästynyt tai epäasianmukainen hoito), tästä on ilmoitettava välittömästi valmistajalle (**sähköposti**: [vigilance@ogt.com](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 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. MYB Deletion Probe -koettimen analyttinen spesifisyys

Koetin	Kohdelokus	Oikeaan lokukseseen hybridisoituneiden signaalien määrä	Kaikkien hybridisoituneiden signaalien kokonaismäärä	Spesifisyys (%)
Punainen MYB	6q23	200	200	100
Vihreä D6Z1	6p11.1-q11.1	200	200	100

### Analyttinen herkkyys

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

Taulukko 2. MYB 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
479	500	95,8	1,7

### 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 signaalikuvio. Youden-indeksi laskettiin sellaisen kynnyksen löytämiseksi, jonka herkkyys + spesifisyys-1 on maksimoitu.

Taulukko 3. MYB Deletion Probe -koettimen normaalien raja-arvojen luokittelu

Epänormaali signaalikuvio	Youden-indeksi	Normaali raja-arvo (%)
1P, 2V	0,97	8

Laboratorioiden on tarkistettava raja-arvot käyttäen omia tietojään<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 koettinta, 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 vakiopiikkeamana (STDEV).

Taulukko 4. MYB Deletion Probe -koetimen uusittavuus ja tarkkuus

Muuttuja	Vakiopoitkeama (STDEV)
Tarkkuus	1,09
Näytteestä toiseen	1,19
Päivästä toiseen	1,20
Erästä toiseen	0,90
Kokonaispoikkeama	1,06

**Kliininen suorituskyky**

Kliininen suorituskyky määritettiin näytteestä, joka edustaa tuotteen aiottua kohdeväestöä. Kunkin näytteen kohdalla tallennettiin  $\geq 100$  interfaasisolun signaalikuvio. 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 yksilöteistä lähestymistapaa käyttämällä.

Taulukko 5. MYB Deletion Probe -koetimen kliininen suorituskyky

Muuttuja	Tulos
Kliininen herkkyys (oikea positiivinen aste, TPR)	97,8%
Kliininen spesifisyys (oikea negatiivinen aste, TNR)	99,6%
Väärä positiivinen aste (FPR) = $1 - \text{spesifisyys}$	0,4%

**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. Clappier *et al.*, Blood 2007;110(4):1251-1261
2. Starostik *et al.*, Blood 2000;95(4):1180-1187
3. Stilgenbauer *et al.*, Leukemia, 1999;13:1331-1334
4. Van Vlierberghe and Ferrando, J of Clin Inv 2012;122(10):3398-3406
5. Arsham, MS., Barch, M.J. 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, Ketteiling 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
	fi: Lääkinnällinen laite <i>in vitro</i> -diagnoosiin
	fi: Eräkoodi
	fi: Tutustu käyttöohjeisiin
	fi: Valmistaja
	fi: Käytön eräpäivä
	fi: Pidettävä poissa auringonvalosta
	fi: Lämpötilaraja
	fi: Riittävä sisältö <n> testiin
	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