



A Sysmex Group Company



Käyttöohje

REF: LPH 031-S / LPH 031

PDGFRB Breakapart Probe irrotettava koetin



VAIN AMMATTIKÄYTTÖÖN



www.cytocell.com

Lisätietoja ja muita kieliiä saatavilla osoitteesta www.ogt.com

Rajoitukset

Laitte on suunniteltu havaitsemaan uudelleenjärjestymiä, joissa on katkoskohtia tämän koetinsarjan punaisten ja vihreiden kloonien sitomilla alueilla, joihin sisältyy PDGFRB-alue. Tämä tuote ei ehkä havaitse kyseisen alueen ulkopuolisia katkoskohtia tai vaihtoehtoisia uudelleenjärjestymiä, jotka sisältyvät kokonaisuudessaan tälle alueelle.

Testiä ei ole tarkoitettu käytettäväksi riippumattomaan diagnostiikkaan, raskausajan tutkimuksiin, väestöpohjaiseen seulontaan, vieritestaukseen tai itsestastukseen. 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 tautityypin 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 laboratoriotesien apuvälineeksi, eikä hoitoa 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 PDGFRB Breakapart Probe irrotettava koetin on kvalitatiivinen, ei-automatisoitu FISH (fluorescence in situ hybridisation) -testi, jota käytetään kromosomien uudelleenjärjestymien havaitsemiseen kromosomin 5 alueella 5q32 Carnoy'n liuokseen (3:1 metanoli/etikahappo) fiksatuille, hematologisesti johdetuille solususpensioille potilailta, joilla on vahvistettu tai epäilty akuutti lymfaattinen leukemia (ALL) tai myeloproliferatiivisia neoplasmoja (MPN).

Käyttöaiheet

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

Testin periaatteet

Fluoresenssi *in situ* -hybridisaatio (FISH) on tekniikka, jonka avulla DNA-sekvenssejä voidaan havaita metafasisokromosomeista 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 fiksation ja denaturaation jälkeen saatavilla palautumiseksi samalla tavoin denaturoituu, fluoresenssimerkittyyn DNA-koettimeen, jolla on täydentävä sekvenssi. Hybridisaation jälkeen sitomaton ja muu kuin spesifisesti sidottu DNA-koetin poistetaan, ja DNA vastaväriä voidaan visualisoida varten. Sen jälkeen hybridisoitu koetin voidaan visualisoida fluoresenssimikroskopian avulla kohdemateriaalissa.

Koettimen tiedot

Uudelleenjärjestymiä, joihin liittyy PDGFRB (PDGF-beta-reseptori) -geeni paikassa 5q32, on raportoitu sekä luuytimen että imukudoksen neoplasmissa.

Vuoden 2008 Maailman terveysjärjestön (WHO) myeloisten neoplasmien ja akuuttien leukemioiden luokituksessa todettiin uusi myeloisten neoplasmien alaryhmä: Myeloiset ja lymfaattiset neoplasmat, joissa esiintyy eosinofiliaa ja PDGFRA:n, PDGFRB:n tai FGFR1:n poikkeamia. Nämä neoplasmat muodostavat kolme erityistä tautiryhmää, joilla on joitakin yhteisiä piirteitä¹.

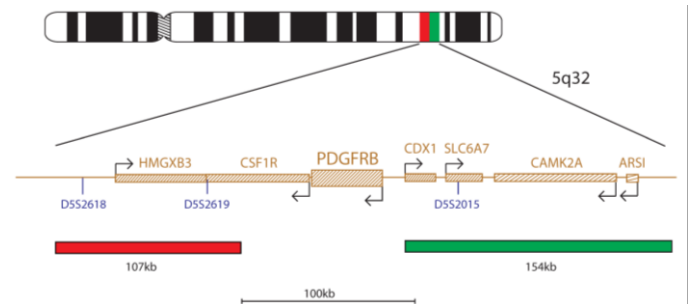
Myeloisille neoplasmoille, joihin liittyy PDGFRB-uudelleenjärjestymä, tyypillistä on PDGFRB-geenin tuotteen konstitutiivinen aktivaatio¹. Tämän aktivaation aiheuttaa useimmiten translokaatio t(5;12)(q31-q33;p13), josta syntyy ETV6-PDGFRB-fuusiogeneeni. Potilailta, joilla on tämä fuusio, on saatu vastetyrosiini-kinasiasestäjillä (TKI)², jotka erityisesti estävät PDGFRB:n kinaasiaktiivisuuden.

B-ALL:n geenin ilmentymisen profiloinnissa on todettu epätavallinen geneettinen alaryhmä, BCR-ABL1:n kaltainen tai Philadelphia-kromosomin kaltainen ("Ph-like") ALL, joka edustaa noin 15:tä prosenttia pediatriasta ALL-tapauksista ja jonka hoitotulos on epäsuotuisa^{3,4}. Potilailta, joilla on tämäntyyppinen ilmentymisprofiili, ovat tyypillistä geneettiset muutokset, kuten uudelleenjärjestymät, mutaatiot tai deleetioidit monissa kinaasi- ja sytokiini-reseptoreissa, mukaan lukien PDGFRB-uudelleenjärjestymät. Tunnettuja PDGFRB-partnereita ovat EBF1 paikassa 5q33, SSBP2 paikassa 5q14, TNIP1 paikassa 5q33 ja ZEB2 paikassa 2q22. Näiden uudelleenjärjestymien havaitseminen on erittäin tärkeää, sillä potilaat voivat hyötyä tyrosiini-kinasiasestäjillä annettusta hoidosta (TKI)^{3,4,5}.

Koettimen tekniset tiedot

PDGFRB, 5q32, punainen

PDGFRB, 5q32, vihreä



PDGFRB-tuotteessa on punaisella leimattu 107 kb:n koetin, joka paikantuu PDGFRB-geenin sentromeeriseen osaan sisältäen D5S2618- ja D5S2619-markkerit sekä vihreä koetin, joka kattaa 154 kb:n alueen PDGFRB-geenin telomeerisella puolella, sisältäen D5S2015-markkerin.

Toimitettavat materiaalit

Koetin: 50 µl pulloa kohti (5 testiä) tai 100 µl pulloa kohti (10 testiä)
Koettimet toimitetaan ennalta sekoitettuna hybridisaatioliuokseen (formamid, 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-fenyli-indoli)).

Varoitukset ja varotoimet

1. Tarkoitettu *in vitro*-diagnostiikkakäyttöön. Vain ammattikäyttöön.
2. Käytä käsinettä käsitellessäsi DNA-koettimia ja DAPI-vastaväriä.
3. Anturiseokset sisältävät formamidia, joka on teratogeeni: älä hengitä höyryä sisään tai päästä ainetta kosketuksiin ihon kanssa. Käsiteltävä väri: käytä käsinettä ja laboratoriotakkia.
4. DAPI on potentiaalinen karsinogeeni. Käsiteltävä väri: 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 Tarvitvat mutta pakkaukseen sisällymättömät

DS101/CE-fi v008.00/2020-12-01 (H042 v3)

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. Kostutettu säiliö
11. Fluoresenssiluokan mikroskooppilinsin immersioöljy
12. Työpöytäsentrifugi
13. Mikroskooppiohjelmakalibri
14. 24 x 24 mm:n peitelasit
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 aaltopituuksilla:

Loisteaine	Viritysmaks [nm]	Emissiomaks [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 hämää signaaleita. Noudata valmistajien suosituksia lampun käyttöön ja suodatintien iän suhteen.

Näytteen valmistelu

Sarja on suunniteltu käytettäväksi hematologisesti johdettuihin solususpensioihin, jotka on fiksatoitu Carnoy'n liuosfiksatiiviin (3:1 metanoli/etiikkahappo), jotka on valmistettu laboratorion tai laitoksen suuntaviivojen mukaisesti. Valmistele ilmakeivat näytteet mikroskoopin objektiivilaseille sytogeneettisten vakioitoimenpiteiden mukaisesti. AGT-sytogeneetikkalaboratorion opaskirja sisältää suosituksia näytteen keräämisestä, viljelystä, poiminnasta ja objektiivilasi valmistelusta⁶.

Liuksen valmistus

Etanolioliukset

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 laboratorioväli on aina rajallista).

Objektiivilasin valmistelu

1. Laita pisara solunäytettä mikroskooppiohjelmakalibriin. Anna kuivua. (Vaihtoehtoisesti, jos käytetään sytogeneettistä kuivauskammioita: mikroskooppiohjelmakalibriin on asetettava pisara näytettä sytogeneettisen kuivauskammion avulla. Kammiota on käytettävä noin 25 °C:n lämpötilassa ja 50 %:n kosteudessa, jotta solunäytepisara voidaan asettaa optimaaliseksi 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 solunäytteelle ja aseta peitelasi varoen paikalleen. Sulje kumiliuosliimalla ja anna liiman kuivua täysin.

Denaturaatio

10. Denaturoi näyte ja koetin samanaikaisesti kuumentamalla objektiivilasiä 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 10 minuuttia.
18. Tarkastele fluoresenssimikroskoopilla (katso Fluoresenssimikroskooppisuositus).

Valmiiden objektiivilasi vakaus

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

Toimenpidesuositukset

1. Objektiivilasiin sintraaminen tai ikäännyttäminen saattaa heikentää signaalien fluoresenssia
2. Muiden kuin Cytocell Ltd -yhtiön toimittamien tai suosittelemien reagenssien käyttö saattaa vaikuttaa haitallisesti hybridisaatio-dosuhteisiin.
3. Käytä liuosten, 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 löyhys saattaa johtaa koettimen epäspesifiseen sitoutumiseen ja liiallinen ankaruus signaalien puuttumiseen.
5. Epätäydellinen denaturaatio saattaa johtaa signaalien puuttumiseen ja liiallinen denaturaatio saattaa myös johtaa epäspesifiseen sitoutumiseen.
6. Liiallinen hybridisaatio saattaa johtaa ylimääräisiin tai odottamattomiin signaaleihin.
7. Käyttäjien on optimoitava omien näytteidensä protokolla ennen testin käyttöä.
8. Suboptimaaliset olosuhteet saattavat johtaa epäspesifiseen sitoutumiseen, jotka saatetaan tulkita koetinsignaaleiksi.

Tulosten tulkitseminen

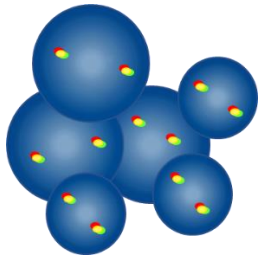
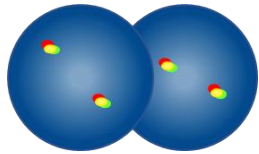
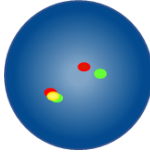
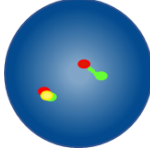
Objektiivilasin laadun arviointi

Objektiivilasi 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

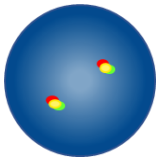
Analysointiohjeet

- Kahden 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 tumen kohdalla. Käytä tällaisissa tapauksissa yksittäisiä suodatimia ja/tai säädä fokustasoa.
- Suboptimaalisissa olosuhteissa signaalit saattavat näyttää hajanaisilta. Jos kaksi samanväristä signaalia koskettaa toisiaan, jos niiden välinen etäisyys on enintään yhtä suuri kuin kahden signaalin leveys tai jos kahta signaalia yhdistää heikko säie, katso ne yhdeksi signaaliksi.
- Mikäli on epäilystä siitä, voidaanko solu analysoida, älä analysoi sitä.

Analysointiohjeet	
	Älä laske – tumat ovat liian lähellä, jotta rajoja voisi määrittää
	Älä laske päällekkäisiä tumia – kummankin tumen kaikki alueet eivät ole näkyvissä
	Laske kahdeksi fuusiosignaalksi – punaisen ja vihreän signaalin välinen rako on enintään kahden signaalileveyden kokoinen
	Laske kahdeksi fuusiosignaalksi – yksi fuusiosignaali on hajanainen

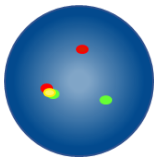
Odotettavissa olevat tulokset

Odotettavissa oleva normaali signaalikuvio



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

Odotettavissa oleva epänormaali signaalikuvio



Jos solussa on PDGFRB-translokaatio, odotettavissa oleva signaalikuvio on yksi punainen, yksi vihreä ja yksi fuusiosignaali (1P, 1V, 1F).

Muut signaalikuviot ovat mahdollisia aneuploidisissa / epätasapainoisissa näytteissä.

Tunnettu ristireaktiivisuus

Ei tunnettua ristireaktiivisuutta.

Haittatapahtumista raportointi

Jos uskot, että tässä laitteessa on ilmennyt toimintahäiriö tai että sen suorituskyvyminaisuuksissa 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 suorituskyvyminaisuudet

Analyttinen spesifisyys

Analyttinen spesifisyys on prosenttiosuus signaaleista, jotka hybridisoituvat oikeaan lokukseseen eikä muihin sijainteihin. Analyttinen spesifisyys määritettiin analysoimalla yhteensä 200 kohdelokusta. Analyttinen spesifisyys laskettiin sellaisten FISH-signaalien määräksi, jotka hybridisoituvat oikeaan lokukseseen jaettuna hybridisoituneiden FISH-signaalien kokonaismäärällä.

Taulukko 1. PDGFRB Breakapart Probe irrotettavan koettimen analyttinen spesifisyys

Koetin	Kohdelokus	Oikeaan lokukseseen hybridisoituneiden signaalien määrä	Kaikkien hybridisoituneiden signaalien kokonaismäärä	Spesifisyys (%)
Punainen PDGFRB	5q32	200	200	100
Vihreä PDGFRB	5q32	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. PDGFRB Breakapart Probe irrotettavan koettimen analyttinen herkkyys

Sellaisten solujen määrä, joilla on odotettavissa olevat signaalikuviot	Sellaisten solujen määrä, joilla on tulosten laskennassa käytettävät signaalit	Herkkyys (%)	95 %:n luottamusväli
488	500	97,6	1,3

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. PDGFRB Breakapart Probe irrotettavan koettimen normaalien raja-arvojen luokittelu

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

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

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 vakiopoitkeamana (STDEV).

Taulukko 4. PDGFRB Breakapart Probe irrotettavan koettimen uusittavuus ja tarkkuus

Muuttuja	Vakiopoiikkeama (STDEV)
Tarkkuus	0,00
Näytteestä toiseen	0,00
Päivästä toiseen	0,00
Erästä toiseen	0,00
Kokonaispoiikkeama	0,00

Kliininen suorituskyky

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

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

Taulukko 5. PDGFRB Breakapart Probe irrotettavan koettimen kliininen suorituskyky

Muuttuja	Tulos
Kliininen herkkyys (oikea positiivinen aste, TPR)	99,7%
Kliininen spesifisyys (oikea negatiivinen aste, TNR)	100%
Väärä positiivinen aste (FPR) = 1 – spesifisyys	0%

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

1. Swerdlow *et al.*, editors, WHO Classification of Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissues, Lyon, France, IARC:2008
2. Apperley JF *et al.*, N Engl J Med 2002;347:481
3. Harrison, Hematology Am Soc Hematol Educ Program 2013;2013:118-125
4. Mullighan, J Clin Invest 2012;122(10):3407-3415
5. Roberts *et al.*, N Eng J Med 2014;371(11):1005-1015
6. Arsham, MS., Barch, M.J. and Lawce H.J. (eds.) (2017) *The AGT Cytogenetics Laboratory Manual*. New Jersey: John Wiley & Sons Inc.
7. 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.
8. 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
	fi: Lääkinnällinen laite <i>in vitro</i> - diagnostiikkaan
	fi: Eräkoodi
	fi: Tutustu käyttöohjeisiin
	fi: Valmistaja
	fi: Käytön eräpäivä
	fi: Lämpötilaraja
	fi: Pidettävä poissa auringonvalosta
	fi: Riittävä sisältö <n> testiin
	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