



A Sysmex Group Company



## Käyttöohje

REF: LPH 040-S / LPH 040

## IGH/CCND3 Translocation, Dual Fusion 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 uudelleenjärjestyksiä, joissa on katkoskohtia koetinsarjan punaisten ja vihreiden kloonien rajaamilla alueilla, joihin sisältyvät IGH- ja CCND3-alueet. Tämä tuote ei ehkä havaitse kyseisen alueen ulkopuolisia katkoskohtia tai vaihtoehtoisia uudelleenjärjestyksiä, jotka sisältyvät kokonaisuudessaan tälle alueelle.

Testiä ei ole tarkoitettu käytettäväksi riippumattomaan diagnostiikkaan, raskausajan tutkimuksiin, väestöpohjaiseen seulontaan, vieritestaukseen tai itsestaukseen. 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 näyteen- 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 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 IGH/CCND3 Translocation, Dual Fusion Probe -koetin on kvalitatiivinen, ei-automatisoitu FISH (fluorescence *in situ* hybridisation) -testi, jota käytetään kromosomien uudelleenjärjestyksien havaitsemiseen kromosomin 6 alueen 6p21. ja kromosomin 14 alueen 14q32.3 välillä Carnoy'n liuokseen (3:1 metanolia/etiikkahappoa) fiksatoituille hematologisesti johdetuille soluspensioille potilaita, joilla on vahvistettu tai epäilty multipple myelooma (MM).

### Käyttöaiheet

Tämä tuote on suunniteltu käytettäväksi muiden kliinisten ja histopatologisten testien lisäksi vakiintuneissa diagnostiikan ja kliinisen hoidon hoitopoluissa, joissa IGH-CCND3-translokaation tilantutkiminen 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 kokonaisiaromosomeja 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 fiksaatio ja denaturaation jälkeen saatavilla palautumiseksi samalla tavoin denaturoituu, fluoresenssiemerkittyyn DNA-koettiin, jolla on täydentävä sekvenssi. Hybridisaation jälkeen sitomaton ja muu kuin spesifisesti sidottu DNA-koetin poistetaan, ja DNA vastavärijätään visualisointia varten. Sen jälkeen hybridisoitu koetin voidaan visualisoida fluoresenssimikroskopian avulla kohdemateriaalissa.

### Koettimen tiedot

CCND3 (sykliini D3) -geeni paikantuu alueelle 6p21.1 ja IGH (immunoglobuliinin raskasketjun lokus) paikantuu alueelle 14q32.33.

Noin 50–60 prosenttiin multipplein myelooman (MM) tapauksista liittyy translokaatioita, joissa on mukana IGH ja yksi useista partnereista, mukaan lukien CCND1, NSD2 (MMSET) ja FGFR3, CCND3, MAF tai MAFB<sup>1</sup>.

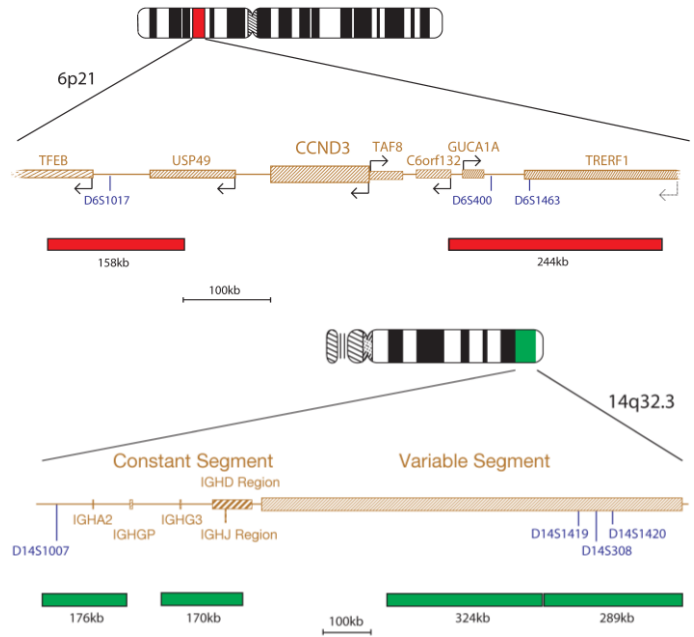
Translokaatio t(6;14)(p21;q32) on usein tavattu translokaatio, jota esiintyy 4 prosentissa MM-tapauksista<sup>2</sup>.

CCND3 on tunnistettu putatiiviseksi onkogeeniksi, jonka dysregulaatio aiheuttaa t(6;14)(p21;q32)-translokaatiosta<sup>2</sup>. Translokaatiossa näyttää olevan taustalla virhe IGH-vaihdon uudelleenyhdistymisessä, sillä on todettu, että KMM-1 solulinjassa translokaatio häiritsee tämän alueen switch-vyöhykettä ja asettaa CCND3:n vastakkain IGH-promootorin kanssa, jolloin CCND3:n ilmentymisen taso nousevat<sup>2</sup>. Tätä mekanismia pidetään samantyyppisenä kaikissa IGH-translokaatiotapauksissa. Useimmat katkoskohdat näyttävät keskittyvän alueelle, joka on alle 200 kb:n päässä CCND3-geenin sentromeerialueelta<sup>2</sup>.

CCND3-IGH-translokaatioita on myös raportoitu useissa muissa B-solusyöissä, mukaan lukien plasmamoluleukemia, diffuusi suurisoluihin B-solulymfooma (DLBCL) sekä pernan lymfoomat, joissa on villoosia lymfosyyttejä (SLVL)<sup>3</sup>.

### Koettimen tekniset tiedot

CCND3, 6p21, punainen  
IGH, 14q32.33, vihreä



IGH/CCND3-tuote koostuu vihreällä leimatuista koettimista, jotka kattavat IGH-geenin vakio-, J-, D- ja variaabelin segmentin, sekä punaisella leimatuista CCND3-koettimista. CCND3-koetin sisältää 158 kb:n koettimen CCND3-geenin telomeerialueelle, joka sisältää D6S1017-markkerin sekä toisen koettimen, joka kattaa TAF8-geenin 244 kb:n sentromeerisen alueen, mukaan lukien D6S400- ja D6S1463-markkerit.

### Toimitettavat materiaalit

**Koetin:** 50 µl pulloa kohti (5 testiä) tai 100 µl pulloa kohti (10 testiä)  
Koettimet toimitetaan ennalta sekoitettuna hybridisaatioliuokseen (formamidi, dekstraanisulfaatti, suolaliuos-natriumsitraatti (SSC)), ja ne ovat valmiita käytettäväksi.

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

Vastaväri on DAPI häipymistä ehkäisevä (ES: 0, 125 µg/ml DAPI (4,6-diamidino-2-fenyyli-indoli)).

### Varoitukset ja varotoimet

1. Tarkoitettu *in vitro*-diagnostiikkakäyttöön. Vain ammattikäyttöön.
2. Käytä käsinettä käsitellessäsi DNA-koettimia ja DAPI-vastaväriä.
3. Anturiseokset sisältävät formamidiä, joka on teratogeeni: älä hengitä höyryä sisään tai päästä ainetta kosketuksiin ihon kanssa. Käsiteltävä varen: käytä käsinettä ja laboratoriotaakkia.
4. DAPI on potentiaalinen karsinogeeni. Käsiteltävä varen: käytä käsinettä ja laboratoriotaakkia.
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. Koetin 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  $-25\text{ °C}$  ...  $-15\text{ °C}$ :n lämpötilassa sarjan etiketissä ilmoitettuun eräpäivään saakka. Koetinta ja vastaväripulloja on säilytettävä pimeässä.



Koetin pysyy vakaana normaalissa käytössä ilmenevien pakastus- ja sulatusjaksojen ajan (jolloin yhden jakson aikana koetin poistetaan pakastimesta ja laitetaan takaisin pakastimeen), ja se on fotostabiili jopa 48 tuntia altistuttuaan jatkuville valaistusolosuhteille. On ryhdyttävä kaikkiin mahdollisiin toimenpiteisiin valolle ja lämpötilan muutoksille altistumisen rajoittamiseksi.

## Laitteisto ja materiaalit Tarvittavat mutta pakkaukseen sisällytetyt

Kalibroituja laitteistoja on käytettävä:

1. Lämpölevy (kiinteällä levyllä ja tarkalla lämpötilan hallinnalla  $80\text{ °C}$ :n lämpötilaan saakka)
2. Kalibroidut tilavuudeltaan vaihtelevat mikropipetit ja kärjet, 1–200 µl
3. Vesikylypy tarkalla lämpötilan hallinnalla  $37\text{ °C}$ :n ja  $72\text{ °C}$ :n lämpötilassa
4. Mikrosentrifugiletkut (0,5 ml)
5. Fluoresenssimikroskoopi (katso Fluoresenssimikroskooppisuositus-osio)
6. Vaihekontrastimikroskoopi
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. Mikroskooppiohjelmisto
14. 24 x 24 mm:n peitelasit
15. Ajastin
16.  $37\text{ °C}$ :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 elohopealampua tai vastaavaa ja öljyimmersiosuunnitelman 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 mikroskoopiin on sovitettu asianmukaiset viritys- ja emissiosuodattimet, jotka kattavat yllä luetellut aallonpituudet. Käytä DAPI-/vihreän spektrin/punaisen spektrin kolmoisikaistanpäästösuodatinta tai vihreän spektrin/punaisen spektrin kaksikaistanpäästösuodatinta 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 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 Carnoyn liuosfiksatiiviin (3:1 metanoli/etikkahappo), jotka on valmistettu laboratorion tai laitoksen suuntaviivojen mukaisesti. Valmistele ilmakuivatut näytteet mikroskoopin objektiivilaseille sytogeneettisten vakioimenpiteiden mukaisesti. AGT-sytogeneetikalaboratorion opaskirja sisältää suosituksia näytteen keräämisestä, viljelystä, poiminnasta ja objektiivilasiin valmistelusta<sup>4</sup>.

## Liuoksen 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 laboratorioalalle on aina rajallista).

### Objektiivilasin valmistelu

1. Laita pisara solunäytettä mikroskooppiohjelmille. Anna kuivua. (Vaihtoehtoisesti, jos käytetään sytogeneettistä kuivauskammioita: mikroskooppiohjelmille on asetettava pisara näytettä sytogeneettisen kuivauskammion avulla. Kammioita on käytettävä noin  $25\text{ °C}$ :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 lämmitä 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  $37\text{ °C}$ :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 objektiivilasia lämpölevylle 2 minuutin ajan  $75\text{ °C}$ :n (+/- 1 °C) lämpötilaan.

### Hybridisaatio

11. Laita objektiivilasi yöksi kosteaan valonkestävään säiliöön  $37\text{ °C}$ :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  $72\text{ °C}$ :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 DAPia.
17. Peitä peitelasilla, poista mahdolliset kuplat ja anna värin kehittyä pimeässä 10 minuuttia.
18. Tarkastele fluoresenssimikroskoopilla. (Katso Fluoresenssimikroskooppisuositus.)

### Valmiiden objektiivilasiin 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 signaalin fluoresenssia
2. Muiden kuin Cytocell Ltd -yhtiön toimittamien tai suosittelemien reagenssien käyttö saattaa vaikuttaa haitallisesti hybridisaatio-dosouteisiin.
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 signaalin puuttumiseen.
5. Epätavallinen 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.
8. Suboptimaaliset olosuhteet saattavat johtaa epäspesifiseen sitoutumiseen, jotka saatetaan tulkita koetinsignaaleiksi.

### Tulosten tulkitseminen

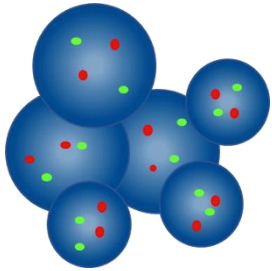
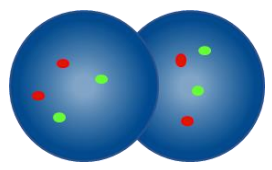
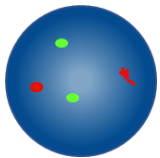
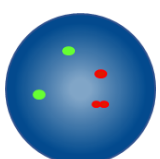
#### Objektiivilasin laadun arviointi

Objektiivilasia ei tarvitse analysoida, jos:

- Yksittäisten signaalien signaalit ovat liian heikkoja analysoitavaksi – jotta analyysia voidaan jatkaa, signaalien on 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 tumen rajoja ei voida erottaa, eivätkä ne ole eheitä

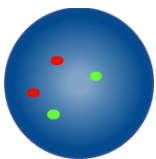
#### Analysointiohjeet

- 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 sääda 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 signaali-levyettä

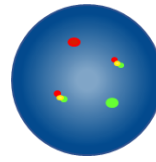
#### Odotettavissa olevat tulokset

##### Odotettavissa oleva normaali signaalikuvi



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

##### Odotettavissa oleva epänormaal signaalikuvi



Solussa, jossa on translokaatio t(6;14)(p21;q32.3), odotettavissa oleva signaalikuvi on yksi punainen, yksi vihreä ja kaksi fuusiota (1P, 1V, 2F).

Muut signaalikuviot ovat mahdollisia aneuploidisissa / epätasapainoisissa näytteissä. Huomaa, että jos muita IGH-uudelleenjärjestymiä esiintyy IGH-CCND3-translokaation lisäksi, vihreä IGH-signaali voi näyttää jakautuneelta.

#### Tunnettu ristireaktiivisuus

Vihreä IGH-koetin voi näyttää ristihybridisaation 15q11.2:lle ja 16p11.2:lle.

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

Taulukko 1. IGH/CCND3 Translocation, Dual Fusion Probe -koettimen analyttinen spesifisyys

Koetin	Kohdelokus	Oikeaan lokukseen hybridisoituneiden signaalien määrä	Kaikkien hybridisoituneiden signaalien kokonaismäärä	Spesifisyys (%)
Punainen CCND3	6p21	200	200	100
Vihreä IGH	14q32.3	200	200	100

##### Analyttinen herkkyys

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

Taulukko 2. IGH/CCND3 Translocation, Dual Fusion 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
472	500	94,4	2,6

Laboratorioiden on tarkistettava raja-arvot käyttäen omia tietojään<sup>5,6</sup>.

##### Normaalien raja-arvojen luokittelu

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

Normaali raja-arvo määritettiin käyttämällä normaaleilta ja positiivisilta potilailta saatuja näytteitä. Kunkin näytteen kohdalla tallennettiin 100 solun signaalikuviot. Youden-indeksi laskettiin sellaisen kynnyksen löytämiseksi, jonka herkkyys + spesifisyys-1 on maksimoitu.

Taulukko 3. IGH/CCND3 Translocation, Dual Fusion Probe -koettimen normaalien raja-arvojen luokittelu

Epänormaali signaalikuvi	Youden-indeksi	Normaali raja-arvo (%)
1P, 1V, 2F	1	4

#### Tarkkuus ja uusittavuus

Tarkkuus on testin luonnollisen vaihtelun mitta, kun testi toistetaan useita kertoja samoissa olosuhteissa. Tämä arvioitiin analysoimalla saman eränumeron koetinta, 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. IGH/CCND3 Translocation, Dual Fusion Probe-koettimen uusittavuus ja tarkkuus**

Muuttuja	Vakiopoitkeama (STDEV)
Tarkkuus	0,00
Näytteestä toiseen	0,00
Päivästä toiseen	0,00
Erästä toiseen	0,00
Kokonaispoitkeama	0,00

#### Kliininen suorituskyky

Kliininen suorituskyky määritettiin näytteestä, joka edustaa tuotteen aiottua kohdeväestöä. Kunkin näytteen kohdalla tallennettiin  $\geq 100$  interfaasisolun signaalikuvioita. Normaali / epänormaali määrittäminen tehtiin vertaamalla sellaisten solujen prosenttiosuus, jolla oli spesifinen epänormaali signaalikuvio normaalin raja-arvoon verrattuna. Tuloksia verrattiin sen jälkeen näytteen tunnettuun tilaan.

Kliinisten tietojen tulokset analysoidiin herkkyden, spesifisyyden ja raja-arvojen aikaansaamiseksi yksilöiteistä lähestymistapaa käyttämällä.

**Taulukko 5. IGH/CCND3 Translocation, Dual Fusion Probe -koettimen kliininen suorituskyky**

Muuttuja	Tulos
Kliininen herkkyys (oikea positiivinen aste, TPR)	100%
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@cytozell.com

**Verkkosivut:** www.ogt.com

#### Viitteet

- Fonseca *et al.*, Cancer Res 2004;64:1546-58
- Shaughnessy *et al.*, Blood 2001;98(1):217-23
- Soniki *et al.*, Blood 2001;98(9):2837-44
- Arsham, MS., Barch, M.J. and Lawoe H.J. (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.

REF	fi: Kuvastonumero
IVD	fi: Lääkinnällinen laite <i>in vitro</i> - diagnostiikkaan
LOT	fi: Eräkoodi
	fi: Tutustu käyttöohjeisiin
	fi: Valmistaja
	fi: Käytön eräpäivä
	fi: Lämpötilaraja
	fi: Pidettävä poissa auringonvalosta
	fi: Riittävä sisältö <n> testiin
CONT	fi: Sisältö

#### Patentit ja tavaramerkit

CytoCell on 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

