



A Sysmex Group Company



## Käyttöohje

REF: LPH 013-S / LPH013

## MLL (KMT2A) Breakpart Probe irrotettava koetin



VAIN AMMATTIKÄYTTÖÖN



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

### Rajoitukset

Laitte on suunniteltu havaitsemaan uudelleenjärjestelyjä, joissa on katkoskohtia tämän koetinsarjan punaisten ja vihreiden kloonien sitomilla alueilla, joihin sisältyy MLL (KMT2A) -geeni. Tämä tuote ei ehkä havaitse kyseisen alueen ulkopuolisia katkoskohtia tai vaihtoehtoisia uudelleenjärjestelmiä, jotka sisältyvät kokonaisuudessaan tälle alueelle.

Testiä ei ole tarkoitettu käytettäväksi riippumattomaan diagnostiikkaan, raskausajan tutkimuksiin, väestöpohjaiseen seulontaan, vieritestaukseen tai itestestaukseen. Tämä tuote on tarkoitettu ainoastaan ammattimaiseen laboratoriokäyttöön; soveltuvan pätevyyden saaneen henkilöstön on tulkitettava 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 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 MLL (KMT2A) Breakpart Probe irrotettava koetin on kvalitatiivinen, ei-automatisoitu FISH (fluorescence in situ hybridisation) -testi, jota käytetään havaitsemaan kromosomien uudelleenjärjestymiä kromosomin 11 alueella 11q23.3 Carnoy'n liuokseen (3:1 metanoli/etikkahappo) fiksatoituille, hematologisesti johdetuille solususpensioille potilailta, joilla on vahvistettu tai epäilty akuutti myelooinen leukemia (AML) tai akuutti lymfaattinen leukemia (ALL).

### Käyttöaiheet

Tämä tuote on suunniteltu käytettäväksi muiden kliinisten ja histopatologisten testien lisäksi vakiintuneissa diagnostiikan ja kliinisen hoidon hoitopoluissa, joissa MLL (KMT2A) -uudelleenjärjestymän tilan tunteminen olisi tärkeää kliiniseen 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 tumorien kromosomianalyysiin. Kohde-DNA on fiksation 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 visualisoitua varten. Sen jälkeen hybridisoitu koetin voidaan visualisoida fluoresenssimikroskopian avulla kohdemateriaalissa.

### Koettimen tiedot

KMT2A (lysiinimetyyli transferaasi 2A) -geeni paikassa 11q23.3 on yleensä uudelleenjärjestynyt akuuteissa leukemioissa, etenkin pikkulasten leukemiassa ja sekundaarisessa leukemiassa, DNA-topoisomeraasi II:n inhibiittorilla tehdyn hoidon jälkeen<sup>1</sup>.

KMT2A-geenillä on huomattava homologia drosophila trithorax -geenin kanssa, ja se koodittaa histonimetyyli transferaasia, joka toimii transkription epigeneettisen säätelijänä. KMT2A-translokaatioista syntyy kimeerinen proteiini, jossa KMT2A:n aminoterminaalinen osa on fuusioitunut fuusiopartnerigeenin karboksiterminaaliseen osioon. Funktionaalisella proteiinilla on merkittävä tehtävä sikiönkehityksessä ja hematopoiesissa<sup>1,2,3,4</sup>.

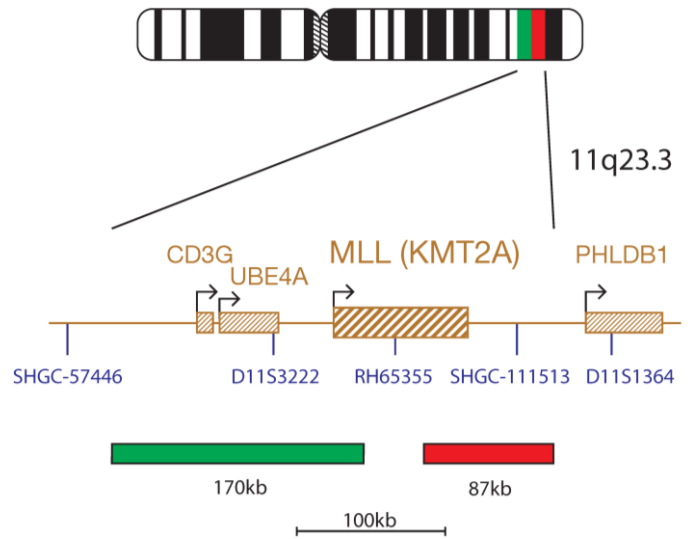
KMT2A-uudelleenjärjestelyjä on havaittavissa noin 80 prosentilla lapsista, joilla on akuutti lymfaattinen leukemia (ALL) ja 5–10 prosentilla lapsi- ja aikuispotilailta, joilla on ALL<sup>3,4</sup>. Niitä on myös 60 prosentissa pikkulasten akuutteja myeloosia leukemioita (AML), 3 prosentissa *de novo* -tapauksia sekä 10 prosenttia hoitoon liittyvistä aikuisten AML-tapauksista<sup>3,5</sup>. Tähän päivään mennessä on tunnistettu yli 70 partneria, joissa yleisimmät translokaatiot ovat MLL-AFF1; t (4;11) (q21;q23.3), MLL-MLL4; t (6;11)(q27;q23.3), MLL-MLL3; t (9;11) (p22;q23.3) ja MLL-MLL1; t (11;19)(q23.3;p13.3)<sup>1</sup>.

Historiallisesti KMT2A-uudelleenjärjestymät akuuteissa leukemiassa liittyivät huonompiin hoitotuloksiin, mutta viimeaikaisissa tutkimuksissa on todettu, että ennuste riippuu vahvasti fuusiopartnerista, ja siihen saattaa myös vaikuttaa se, onko potilas lapsi vai aikuinen<sup>1</sup>.

### Koettimen tekniset tiedot

MLL, 11q23.3, punainen

MLL, 11q23.3, vihreä



MLL-tuote sisältää 87 kb:n koettimen, leimattu punaisella, joka kattaa MLL (KMT2A) -geenin telomeerisen alueen, sekä SHGC-111513-markkerin ja vihreän koettimen, joka kattaa 170 kb:n alueen MLL-geenin sentromeerisellä alueella, sisältäen CD3G- ja UBE4A-geenit.

### 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-fenyyli-indoli)).

### Varoitukset ja varoimet

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 varoen: käytä käsinettä ja laboratoriatikkia.
4. DAPI on potentiaalinen karsinogeeni. Käsiteltävä varoen: käytä käsinettä ja laboratoriatikkia.
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.

DS083/CE-fi v011.00/2020-12-01 (H036 v6)



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 altistuttuun 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 °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. Mikroskooppibjektivilasi
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. Akkuvessit

#### Fluoresenssimikroskooppisuositus

Käytä 100 watin elohopealamppua tai vastaavaa ja öljyimmersionsuunnitelman 60/63x- tai 100x-apkromaattibjektiveja 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 tai 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 käyttöajan ja suodatintien iän suhteen.

#### Näytteen valmistelu

Sarja on suunniteltu käytettäväksi hematologisesti johdettuihin solususpensioihin, jotka on fiksatoitu Carnoy'n liuosfiksatiivin (3:1 metanoli/etikahappo), jotka on valmistettu laboratorion tai laitoksen suuntaviivojen mukaisesti. Valmistele ilmakuivatut näytteet mikroskoopin objektivilaseille sytogeneettisten vakio-toimenpiteiden mukaisesti. AGT-sytogeneettikalaboratorion opaskirja sisältää suosituksia näytteen keräämisestä, viljelystä, poiminnasta ja objektivilasian valmistelusta.

#### Liuksen valmistus

##### Etanoliiliuokset

Laimenna 100 % etanoli akkuvessillä 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 laboratoriovalolle on aina rajallista).

##### Objektiivilasin valmistelu

1. Laita pisara solunäytettä mikroskooppibjektivilasille. Anna kuivua. (Vaihtoehtoisesti, jos käytetään sytogeneettistä kuivauskammioita: mikroskooppibjektivilasille 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 koetiniuos 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 varen 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 värin kehittyä pimeässä 10 minuuttia.
18. Tarkastele fluoresenssimikroskoopilla (katso Fluoresenssimikroskooppisuositus).

##### Valmiiden objektiivilasiensa vakaus

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

##### Toimenpidesuosituksukset

1. Objektiivilasiensa 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 löyhys saattaa johtaa koettimen epäspesifiseen sitoutumiseen ja liiallinen ankaruus signaalin puuttumiseen.
5. Epätäydellinen denaturaatio saattaa johtaa signaalin puuttumiseen ja liiallinen denaturaatio saattaa myös johtaa epäspesifiseen sitoutumiseen.
6. Liiallinen hybridisaatio saattaa johtaa ylimääräisiin tai odottamattomiin signaaleihin.
7. Käyttäjien on optimoitava omien näytteidensä protokolla ennen testin käyttöä.
8. Suboptimaaliset olosuhteet saattavat johtaa epäspesifiseen sitoutumiseen, jotka saatetaan tulkita koetinsignaaleiksi.

##### Tulosten tulkitseminen

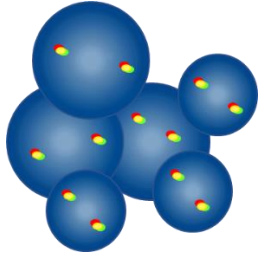
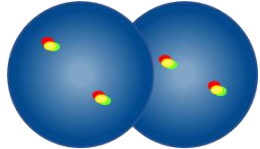
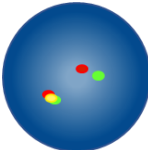
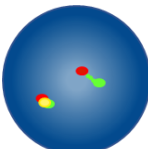
##### Objektiivilasin laadun arviointi

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

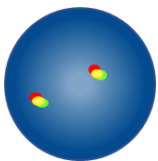
#### Analysointiohjeet

- 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 tuman kohdalla. Käytä tällaisissa tapauksissa yksittäisiä suodattimia 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 muksi kuin uudelleenjärjestelyiksi/fuusioituneiksi, jos punaisen ja vihreän signaalin välinen rako on enintään kahden 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 fuusiosignaalkiksi – punaisen ja vihreän signaalin välinen rako on enintään kahden signaalileveyden kokoinen
	Laske kahdeksi fuusiosignaalkiksi – yksi fuusiosignaali on hajanainen

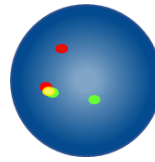
#### Odotettavissa olevat tulokset

##### Odotettavissa oleva normaali signaalikuvio



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

##### Odotettavissa oleva epänormaali signaalikuvio



Jos solussa on balansoitunut MLL (KMT2A) -uudelleenjärjestelmä, odotettavissa oleva signaalikuvio on yksi punainen, yksi vihreä ja yksifuusio (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 suorituskyvymuutoksissa 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 suorituskyvymuutokset

##### Analyttinen spesifisyys

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

Taulukko 1. MLL (KMT2A) Breakapart Probe irrotettavan koettimen analyttinen spesifisyys

Koetin	Kohdelokus	Oikeaan lokukseseen hybridisoituneiden signaalien määrä	Kaikkien hybridisoituneiden signaalien kokonaismäärä	Spesifisyys (%)
Punainen MLL	11q23.3	200	200	100
Vihreä MLL	11q23.3	200	200	100

##### Analyttinen herkkyys

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

Taulukko 2. MLL (KMT2A) 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
4965	5000	99,30	99,03 – 99,50

##### 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 uudelleenjärjestelmälle negatiivisista näytteistä, jota koetin on tarkoitettu tunnistamaan, ja käyttäen käänteistä beetafunktiota. Kaksi analytiikkaa kirjasi toisistaan riippumatta 100 interfaasisolun signaalikuvioita, yhteensä 200 näytettä kohden.

Taulukko 3. MLL (KMT2A) Breakapart Probe irrotettavan koettimen normaali raja-arvojen luokittelu

Epänormaali signaalikuvio	Raja-arvon määrittämisessä analysoidujen näytteiden lukumäärä	Näytettä kohden analysoidujen tumien lukumäärä	Väriiden positiivisten signaalikuvioiden suurin lukumäärä	Normaali raja-arvo (%)
1P, 1V, 1F	1600	200	3	3,8

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

##### Uusittavuus

Uusittavuus määritettiin kolmessa erillisessä laboratoriossa, jotka testasivat kuusi sokkonäytettä (kaksi negatiivisia uudelleenjärjestelmän osalta, kaksi heikosti positiivista näytettä, joissa oli 1–3-kertainen raja-arvo, ja kaksi vahvasti positiivista näytettä, jotka sisälsivät yli 45 prosenttia uudelleenjärjestelmälle positiivisia soluja).

Analyysi tehtiin käyttäen kahta kopiota jokaisesta näytteestä viiden ei-peräkkäisen päivän aikana.

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

Uusittavuus laskettiin käyttäen kunkin testin aikana tutkittujen muuttujen yhtäpitävyyttä.

**Taulukko 4. MLL (KMT2A) Breakapart Probe irrotettavan koettimen uusittavuus**

Uusittavuustutkimus	Näyte	Yhtäpitävyys (%)
Päivänsisäinen/päivienvälinen/kohteidenvälinen	Negatiivinen	100
	Vahvasti positiivinen	100
Eränsisäinen	Negatiivinen	100
	Vahvasti positiivinen	100

**Kliininen suorituskyky**

Kliininen suorituskyky määritettiin käyttäen valikoimattomien potilaiden edustavaa joukkoa, jotka olivat saaneet lähetteen AML:n tai MDS:n vuoksi kahteen eri kohteeseen (100 näytettä kerättiin kohteesta yksi, ja 413 näytettä kohteesta kaksi). Koettimen havaitsemien uudelleenjärjestymien ilmenemisprosentteja verrattiin kirjallisuuskatsauksen tuloksiin.

Tämän vertailun mahdollistamiseksi kirjallisuuden osoittama luottamusväli 100 näytteen populaation koolta laskettiin laskemalla "1-sample proportions test with continuity correction" -testillä.

**Taulukko 5. MLL (KMT2A) Breakapart Probe irrotettavan koettimen kliininen suorituskyky**

Uudelleenjärjestely	Prevalenssi				
	Kirjallisuuskatsaus (%)	95% LCI (%)	Kohde 1 (%)	Kohde 2 (%)	95% UCL (%)
AML ja t(11;v)(q23;v)/11q23 abn./MLL-uudelleenjärjestymä	2,9	0,7	2	1,45	9,0
MDS ja t(11;v)(q23;v)	0,2	0			5,0

**Lisätietoja**

Tuotteita koskevia lisätietoja on saatavilla ottamalla yhteyttä CytoCellin teknisen tuen osastoon.

**Puh.:** +44 (0)1223 294048

**Sähköposti:** techsupport@cyto cell.com

**Verkkosivut:** www.ogt.com

**Viitteet**

1. Tamai, Inokuchi, J Clin Exp Hematopathol 2010;50(2):91-98
2. Wright, Vaughan, Critical Reviews in Oncology/Hematology 2014;91(3):283-291
3. Van der Burg *et al.*, Leukemia 2004;18(5):895-908
4. Tomizawa, Pediatr Int 2015;57(8):811-819
5. Grossman *et al.*, Leukemia 28 March 2013; doi10.1038/leu.2013.90
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.

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 Cyto cell Ltd:n rekisteröity tavaramerkki.



**Cyto cell 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@cyto cell.com

**Verkkosivut:** www.ogt.com