



A Sysmex Group Company



Kasutusjuhend

REF: CE-LPH 052-S / CE-LPH 052

P53 (TP53)/ATM Combination Deletion Probe



AINULT ERIALASEKS KASUTUSEKS



Lisateave ja muud keeled on saadaval aadressil ogt.com/IFU

Kasutusotstarve

Sond CytoCell® P53 (TP53)/ATM Combination Deletion Probe on kvalitatiivne, mitteautomaatne, fluorestsents *in situ* hübriidsatsiooni (FISH) uuring, mida kasutatakse 11. kromosoomi 11q22.3 piirkonna ja 17. kromosoomi 17p13 piirkonna kromosomaalsete deletsioonide tuvastamiseks Carnoy lahuses (3:1 metanool/atseetahape) fikseeritud hematoloogilist tuletatud rakususpensioonides, mis pärinevad kinnitatud või kahtlustatud kroonilise lümfotsütaarse leukeemiaga (CLL) patsientidelt.

Näidustused

See seade on loodud täiendusena teistele kliinilistele ja histopatoloogilistele uuringutele tunnustatud diagnostilistes ja kliinilistes raviteedes, kus teadmised *P53* (*TP53*) või *ATM* kustutamise oleku kohta on kliinilise ravi seisukohalt olulised.

Piirangud

Seade on loodud tuvastama genoomilisi kadusid, mis on suuremad kui sondikomplekti punase ja rohelise kloni kaetud piirkond, mis sisaldab piirkondi *TP53* ja *ATM*. Piirkonnast väljapoole jäävaid genoomilisi kadusid või piirkonna osalisi kadusid ei pruugita selle seadmega tuvastada.

See seade pole ette nähtud: kasutamiseks iseseisva diagnostilise vahendina, diagnostilise abivahendina, prenataalseks analüüsimiseks, populatsioonipõhiseks skriininguks, patsiendilähedaseks analüüsimiseks või iseendal analüüsimiseks.

See seade on sobimatu kasutamiseks muude proovitüüpide ega haigustüüpide korral ega muuks kasutusotstarbeks, peale selle, mis on kasutusotstarbes täpsustatud.

Seade on ette nähtud muude laboratoorse teaduste analüüsides täiendamiseks ja ravi ei tohiks alustada, põhinedes vaid FISH-i tulemustel.

FISH-i tulemusi peab tõlgendama ja nendest teavitama vastava kvalifikatsiooniga personal vastavalt erialastele kutsestandarditele ja võttes arvesse muid asjakohaseid analüüsitulemusi ning muud kliinilist ja diagnostilist teavet.

See seade on ette nähtud ainult erialaseks laboratoorseks kasutamiseks.

Protokolli järgimata jätmine võib mõjutada analüüsi jõudlust ja põhjustada valepositiivseid/negatiivseid tulemusi.

Analüüsi põhimõte

Fluorestsents *in situ* hübriidsatsiooni (FISH) on meetod DNA järjestuste tuvastamiseks metafaasi kromosoomides või fikseeritud tsütogeneetiliste proovide interfaasi tuumades. Meetod kasutab DNA sonde, mis hübriidseeritakse kogu kromosoomi või üksiku unikaalse järjestusega ning toimib G-vöödi tsütogeneetiliste analüüsides võimeka täiendusena. Seda meetodit saab nüüd rakendada prenataalse, hematoloogilise ja tahke kasvaja kromosomaalse analüüsi esmatähtsa uuringu tööriistana. Pärast fikseeritud ja denatureeritud sihtmärk-DNA on saadaval samase denatureeritud, fluorestsentsmarkeriga DNA sondiga paardumiseks, millel on komplementaarne järjestus. Peale hübriidsatsiooni eemaldatakse seondumata ja ebaspetsiifiliselt seotud DNA sond ning DNA visualiseeritakse vastandvärvimisega. Seejärel võimaldab fluorestsentsmikroskoopia hübriidseeritud sondi visualiseerimist sihtmärkmaterjalil.

Sondi teave

Tuumorsuppressorgeen *TP53* (tuumorivalk *p53*) geen asukohas 17p13 ja proteiinkinaas *ATM*-i (*ATM*-i seriini/treoniini kinaas) geen asukohas 11q22.3 on

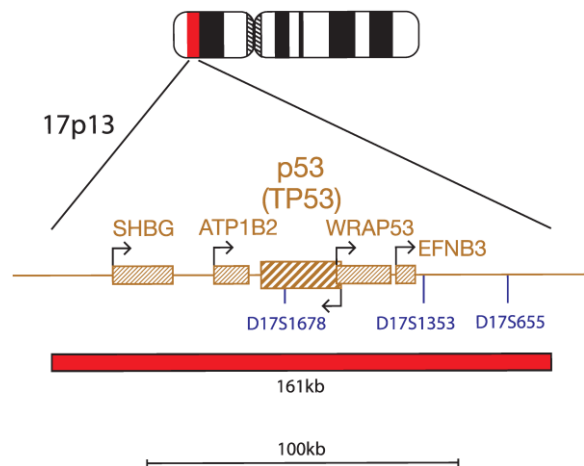
sageli kustutatud kroonilise lümfotsütaarse leukeemia (CLL) puhul. *TP53* on oluline tuumorsuppressorgeen. See toimib tugeva transkriptsioonifaktorina, millel on põhiline roll geneetilise stabiilsuse säilitamisel. *TP53* kadu teatati 5–10% CLL-iga patsientidel ja see on halva prognoosi biomarker, mis prognoosib resistentsust keemiaravile^{2,3,4}. *ATM* on oluline kontrollgeen, mis osaleb rakukahjustuse juhtimises⁵. *ATM*-i kadu teatati 10–20% CLL-iga patsientidel². 11q ja 17p deletsioonid on kaks kõige sagedasemat kromosomaalset aberratsiooni CLL-is; del(11q) eemaldab *ATM*-i ja del(17p) tulemusel on *TP53* kadu⁴.

Sondi spetsifikatsioon

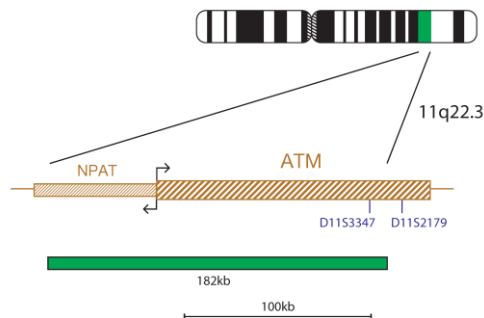
P53, 17p13, punane

ATM, 11q22.3, roheline

CMP-H040 V005.00



CMP-H041 v005.00



P53 komponent sisaldab kogu *P53* (*TP53*) geeni ja piirnevaid piirkondi hõlmavat punasega märgistatud 161 kb sondi. *ATM*-i komponent sisaldab 182 kb rohelisega märgistatud sondi, mis hõlmab *NPAT* geeni telomeerset otsa ja *ATM* geeni tsentromeerset otsa markerist D11S3347 kaugemale.

Tarnitavad materjalid

Sond: 50 µl viaali kohta (5 analüüsi) või 100 µl viaali kohta (10 analüüsi)

Sondid tarnitakse hübriidsatsiooni vahetamiseks eelsoojatuna (< 65% formamiidi; < 20 mg dekstraansulfaati; < 10% 20-kordne naatriumsitraadi soolalahus (saline-sodium citrate, SSC)) ja on valmis kasutamiseks.

Vastandvärv: 150 µl viaali kohta (15 analüüsi)

Vastandvärv on pleekimisvastane DAPI ES (sisaldus 0,125 µg/ml DAPI (4,6-diamidino-2-fenüülindole) glütseroolipõhises kinnituskeskonnas).

Hoiatused ja ettevaatusabinõud

1. Kasutamiseks *in vitro* diagnostikas. Ainult erialaseks laboratoorseks kasutamiseks.
2. Sondi segud sisaldavad formamiidi, mis on teratogeenne; ärge hingake sisse auru ning vältige kontakti nahaga. Käsitsege ettevaatlikult; kasutage kindaid ja laborikilti.
3. Käsitsege DAPI-t ettevaatlikult; kasutage kindaid ja laborikilti.
4. Ärge kasutage, kui viaal(id) on kahjustatud või kui viaali sisu on mistahes viisil rikutud.
5. Tootejäätmate ohutuks käitlemiseks järgige kohalikke jäätmekäitluseeskirju ja kemikaali ohutuskardil toodud soovitusi. See kehtib ka kahjustatud analüüsikomplekti sisule.
6. Vabaneege kõigist kasutatud reaktiividest ja muudest saastunud ühekordseks kasutuseks ette nähtud vahenditest nakkusohutike või potentsiaalselt nakkusohutike jäätmete käitlemise eeskirjade kohaselt. Iga labor peab ise vedelaid ja tahkeid jäätmeid käitlema vastavalt nende loomusele ja ohtlikkuse tasemele ning tagama nende käitlemise ja kõrvaldamise (või laskma need käidelda ja kõrvaldada) vastavalt kehtivatele eeskirjadele.
7. Kasutajad peavad olema suutelised eristama punast, sinist ja rohelist värvi.
8. Esitatud protokoll ja reaktiivide järgimata jätmine võib mõjutada analüüsi jõudlust ja põhjustada valepositiivseid/valenegatiivseid tulemusi.

DS1065/CE-et v003.00/2025-09-09 (CMP-H040 V005 CMP-H041 V005)

Lk 1/5

9. Sondi ei tohiks lahjendada ega segada teiste sondidega.
10. Kui enne denaturatsiooni ei kasutata 10 µl sondi, nagu on protokollis ette nähtud, siis võib see mõjutada analüüsi jõudlust ja põhjustada valepositiivseid/valenegatiivseid tulemusi.
11. Kõiki tooteid tuleb enne kasutamist valideerida.
12. Sisemised kontrollid tuleb läbi viia kontrollproovidega, mis sisaldavad mõjutamata rakupopulatsioone.

Temperatuuri määratlused

- -20 °C / külmutatud / külmikus: -25 °C...-15 °C
- 37 °C: +37 °C ± 1 °C
- 72 °C: +72 °C ± 1 °C
- 75 °C: +75 °C ± 1 °C
- Toatemperatuur: +15 °C...+25 °C

Säilitamine ja käsitsemine

 Komplekti tuleb säilitada külmutatuna temperatuurivahemikus –25...–15 °C kuni kehtivusaja lõpuni, mis on esitatud toote etiketil. Sondi ja vastandvärvi viaale tuleb säilitada pimedas.



FISH-i sond, pleekimisvastane DAPI ES vastandvärv ja hübridisatsioonilahus säilitavad stabiilsuse normaalse kasutamise ajal esinevate sulatamise ja külmutamise tsüklite kestel (kus üks tsüklil kestab sondi eemaldamisest külmikust kuni sinna tagasipanekuni) – 5 tsüklit 50 µl (5 analüüsi) FISH-i sondi viaali puhul, 10 tsüklit 100 µl (10 analüüsi) FISH-i sondi viaali puhul ja 15 tsüklit 150 µl (15 analüüsi) vastandvärvi viaali puhul. Kokkupuudet valgusega tuleb piirata ja võimaluse korral alati vältida. Hoidke komponente kaasas olevas valguskindlas mahutis. Siltidel märgitud erinevatel tingimustel säilitatud ja kasutatud komponendid ei pruugi oodatud viisil toimida ja võivad ebasoodsalt mõjutada analüüsitulemusi. Piirake iga hinna eest kokkupuudet valgusega ja temperatuurimuutustega.

Seadmed ja materjalid, mis on vajalikud, kuid mida ei tarnita

- Kasutada tuleb kalibreeritud seadmeid.
1. Kuumutusplaat (täisplaadi ja täpse temperatuuriregulaatoriga kuni 80 °C)
 2. Kalibreeritud erineva mahuga mikropipetid ja otsikud vahemikus 1–200 µl
 3. Vesivann, täpse temperatuuriregulaatoriga 37 °C ja 72 °C juures
 4. Mikrotsentrifuugi katsutid (0,5 ml)
 5. Fluorestsentsmikroskoop (vt jaotist Fluorestsentsmikroskoobi soovitusel)
 6. Faasikontrastmikroskoop
 7. Läbipaistvast plastist, keraamilised või kuumakindlast klaasist Coplini anumad
 8. Pintsetid
 9. Kalibreeritud pH-meeter (või pH indikaatorribad vahemikus pH 6,5–8,0)
 10. Niiskuskamber
 11. Fluorestsentsmikroskoobi immersioonõli
 12. Lauatsentrifuug
 13. Mikroskoobi alusklaasid
 14. 24×24 mm katteklasisid
 15. Taimer
 16. 37 °C inkubaator
 17. Katteklasi liim
 18. Vortex-segisti
 19. Gradueeritud silindrid
 20. Magnetsegisti
 21. Kalibreeritud termomeeter

Valikulised seadmed, mida ei tarnita

1. Tsütogeneetiline kuivatuskamber

Vajalikud reaktiivid, mida ei tarnita

1. 20-kordne naatriumsitraadi soolalahus (SSC)
2. 100% etanool
3. Tween-20
4. 1M naatriumhüdroksiid (NaOH)
5. 1M vesinikkloriid (HCl)
6. Destilleeritud vesi

Fluorestsentsmikroskoobi soovitusel

Kasutage optimaalseks visualiseerimiseks 100-vatist elavhõbelampi või sellega samaväärset ning immersioonõliga apokromaatsset objektiivi 60/63-kordse või 100-kordse suurendusega. Selles sondi komplektis kasutatud fluorofoorid aktiveeruvad ja emiteerivad järgnevatel lainepikkustel:

Fluorofoor	Eksitatsioon _{max} [nm]	Emissioon _{max} [nm]
Roheline	495	521
Punane	596	615

Veenduge, et asjakohased eksitatsiooni- ja emissioonifiltrid, mis hõlmavad eespool esitatud lainepikkusi, on mikroskoopi paigaldatud.

Kasutage kolme spektri läbilaskevõimega DAPI / rohelise spektri / punase spektri filtrit või kahe spektri läbilaskevõimega rohelise spektri / punase spektri filtrit rohelise ja punase fluorofoori samaaegseks optimaalseks visualiseerimiseks.

Kontrollige enne kasutamist fluorestsentsmikroskoopi, et veenduda selle korrasolekus. Kasutage immersioonõli, mis on fluorestsentsmikroskoopiaks sobiv ja on madala autofluorestsentsiga. Vältige pleekimisvastase DAPI segamist immersioonõliga, kuna see segab signaali. Järgige tootja soovitusi lambi tööea ja filtrite vanuse kohta.

Proovi ettevalmistamine

Komplekt on loodud kasutamiseks Carnoy lahuses (3:1 metanool/atseethape) fikseeritud

hematoloogilisel tuletatud rakususpensioonides, mis pärinevad kinnitatud või kahtlustatud kroonilise lümfotsütaarse leukeemiaga (CLL) patsientidelt, valmistades vastavalt labori või asutuse juhiste. Valmistage ette õhu käes kuivatatud proovid mikroskoobi alusklaasidel vastavalt tsütogeneetika standardprotseduuridele. AGT *Tsütogeneetika laborijuhend* sisaldab soovitusi proovi kogumise, kultuuri istutamise, kogumise ja alusklaasi tegemise kohta.⁶

Lahuse ettevalmistamine

Etanooli lahused

Lahjendage 100% etanool destilleeritud veega, jälgides suhtarvu ja põhjalikult segades:

- 70%-line etanool – 7 osa 100% etanooli suhtes 3 osa destilleeritud vett
 - 85%-line etanool – 8,5 osa 100% etanooli suhtes 1,5 osa destilleeritud vett
- Säilitage lahuseid kuni 6 kuud toatemperatuuril õhukindlas nõus.

2-kordne SSC lahus

Lahjendage 1 osa 20-kordset SSC lahust 9 osa destilleeritud veega ja segage põhjalikult. Kontrollige pH-d ja kohandage, kuni pH on 7,0, kasutades NaOH või HCl vastavalt vajadusele. Säilitage lahust kuni 4 nädalat toatemperatuuril õhukindlas nõus.

0,4-kordne SSC lahus

Lahjendage 1 osa 20-kordset SSC lahust 49 osa destilleeritud veega ja segage põhjalikult. Kontrollige pH-d ja kohandage, kuni pH on 7,0, kasutades NaOH või HCl vastavalt vajadusele. Säilitage lahust kuni 4 nädalat toatemperatuuril õhukindlas nõus.

2-kordne SSC, 0,05% Tween-20 lahus

Lahjendage 1 osa 20-kordset SSC lahust 9 osa destilleeritud veega. Lisage 5 µl Tween-20 10 ml kohta ja segage põhjalikult. Kontrollige pH-d ja kohandage, kuni pH on 7,0, kasutades NaOH või HCl vastavalt vajadusele. Säilitage lahust kuni 4 nädalat toatemperatuuril õhukindlas nõus.

FISH-i protokoll

(Märkus. Veenduge, et sondi ja vastandvärvi kokkupuude labori valgustusega oleks kogu aeg piiratud).

Alusklaasi ettevalmistamine

1. Tilgutage rakuproov mikroskoobi klaasist alusklaasile. Laske kuivada. (Valikuline, kui kasutatakse tsütogeneetilist kuivatuskambrit: rakuproovi optimaalseks valmistamiseks tuleks kambrit kasutada temperatuuril ligikaudu 25 °C ja õhuniiskusel 50%. Kui tsütogeneetiline kuivatuskamber ei ole kättesaadav, kasutage alternatiivina tõmbekappi).
2. Kastke alusklaasid toatemperatuuril 2 minutiks 2-kordsesse SSC lahusesse ilma segamata.
3. Dehüdreerige etanoolilahuste seerias (70%, 85% ja 100%), igas 2 minutit toatemperatuuril.
4. Laske kuivada.

Enne denaturatsiooni

5. Eemaldage sond külmikust ja laske sellel soojustada toatemperatuurile. Tsentrifuugige katsuteid lühidalt enne kasutamist.
6. Veenduge, et sondi lahust on ühtlaselt segunenud, kasutades pipetti.
7. Eemaldage 10 µl sondi analüüsi kohta ja viige see mikrotsentrifuugi katsutisse üle. Pange ülejäänud sond kiiresti külmikusse tagasi.
8. Asetage sond ja proovislaid 5 minutiks kuumutusplaadile eelsoojenema temperatuurile 37 °C (+/- 1 °C).
9. Tilgutage 10 µl sondisegu rakuproovile ja asetage ettevaatlikult katteklasi. Lisage katteklasi liim ja laske liimil täielikult kuivada.

Denaturatsioon

10. Denatureerige proov ja sond üheaegselt, kuumutades slaidi kuumutusplaadil temperatuuril 75 °C (+/- 1 °C) 2 minutit.

Hübridisatsioon

11. Asetage slaid niiskesse valguskindlasse kambris temperatuurile 37 °C (+/- 1 °C), laske seista üleöö.

Hübridisatsioonijärgsed pesud

12. Eemaldage DAPI külmikust ja laske soojustada toatemperatuurile.
13. Eemaldage ettevaatlikult katteklasisid ja kõik liimijäljed.
14. Kastke slaidid 2 minutiks ilma segamata 0,4-kordsesse SSC lahusesse (pH 7,0) temperatuuril 72 °C (+/- 1 °C).
15. Kuivatage slaid ja kastke see 30 sekundiks ilma segamata 2-kordsesse SSC lahusesse, 0,05% Tween-20 lahusesse, toatemperatuuril (pH 7,0).
16. Kuivatage slaid ja lisage igale proovile 10 µl pleekimisvastast DAPI-d.
17. Katke katteklasisiga, eemaldage mullid ja laske värvil pimedas kujuneda 10 minutit.
18. Vaadake fluorestsentsmikroskoobiga (vt **Fluorestsentsmikroskoobi soovitusel**).

Protseduuri soovitus

- 1. Slaidide keetmine või aegumine võib fluorestsentssignaali nõrgendada.
- 2. Cytocell Ltd poolt toodetud või soovitatud reaktiivide asemel muude reaktiivide kasutamine võib ebasoodsalt mõjutada hübriidsatsioonitingimusi.
- 3. Kasutage lahuste, vesivannide ja inkubaatorite temperatuuri mõõtmisel kalibreeritud termomeetrit, sest need temperatuurid on toote optimaalseks jõudluseks kriitilise tähtsusega.
- 4. Pesukontsentratsioonid, pH ja temperatuurid on olulised, kuna vähene rangus võib põhjustada sondi ebaspetsiifilist sidumist ja liiga suur rangus võib põhjustada signaali puudumist.
- 5. Mittetäielik denatureerimine võib põhjustada signaali puudumist ja üleliigne denatureerimine võib samuti põhjustada ebaspetsiifilist seondumist.
- 6. Üleliigne hübriidseerimine võib põhjustada täiendavaid või ootamatuid signaale.
- 7. Kasutajad peaksid enne analüüsi kasutamist diagnostilisel eesmärgil protokollid oma proovidega optimeerima.
- 8. Suboptimaalsed tingimused võivad põhjustada ebaspetsiifilist seondumist, mida võidakse ekslikult sondi signaalina tõlgendada.

Tulemuste tõlgendamine

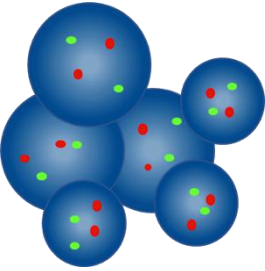
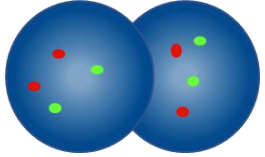
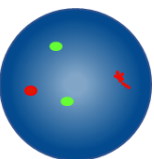
Slaidi kvaliteedi hindamine

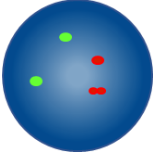
Slaidi ei tohiks analüüsida, kui:

- signaalid on ühe filtriga analüüsimiseks liiga nõrgad – analüüsi jätkamiseks peaksid signaalid olema eredad, selged ja lihtsalt hinnatavad;
- liiga palju kokkukleepunud/kattuvasid rakke segavad analüüsimist;
- üle 50% rakkudest pole hübriidseeritud;
- rakkude vahel on üleliigsed fluorestsentsosakesed ja/või fluorestsentshägud, mis segab signaali – optimaalsetel slaididel peaks taust tunduma tume või must ja puhas;
- rakutuuma piire ei saa eristada ja need pole terviklikud.

Analüüsi eeskirjad

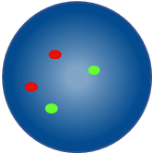
- Iga proovi peaks analüüsima ja tõlgendama kaks analüütikut. Kõik lahknemused tuleks lahendada kolmanda analüütiku hinnanguga.
- Analüütikud peaksid olema riiklikult tunnustatud standardite kohase väljaõppega.
- Iga analüütik peaks hindama eraldi 100 tuuma iga proovi kohta. Esimene analüütik peaks alustama slaidi vasakult küljelt ja teine analüütik paremalt küljelt.
- Iga analüütik peaks oma tulemused üles märkima eraldi andmekandjale.
- Analüüsige vaid terviklikke tuumi, mitte kattuvaid või kokkukleepunud või tsütoplasma jääkidega kaetud ega tugevasti autofluorestsenteeritud tuumi.
- Vältige alasid, kus esineb liigseid tsütoplasma jääke või ebaspetsiifilist hübriidsiooni.
- Signaali tugevus võib vahelduda, isegi ühe tuuma piires. Sellistel juhtudel kasutage üksikfiltrid ja/või kohandage fokaaltasandit.
- Suboptimaalsete tingimuste korral võivad signaalid hajuda. Kui kaks sama värvi signaali puutuvad kokku või nendevaheline kaugus ei ole suurem kui kaks signaalipikkust või kui kaht signaali ühendab ähmane niit, lugege signaalid üheks.
- Kui kahtlete, kas proov on analüüsiks sobiv, siis ärge analüüsige seda.

Analüüsi eeskirjad	
	Mitte lugeda, kui tuumad on piiride määramiseks üksteisele liiga lähedal
	Mitte lugeda kattuvaid tuumasid, sest mõlema tuuma kõiki alasid ei ole näha
	Lugeda kahe punase signaalina ja kahe rohelise signaalina, kui üks kahest punasest signaalist on difuusne

	Lugeda kahe punase signaalina ja kahe rohelise signaalina – ühe punase signaali tühimik on väiksem kui kaks sondilaiust
---	---

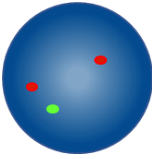
Eeldatavad tulemused

Eeldatav normaalne signaalimuster

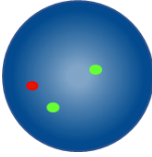


Normaalse raku eeldatav tulemus on kaks punast ja kaks rohelist signaali (2P2R).

Eeldatavad ebanormaalsed signaalimustrid



ATM-i deletsiooniga raku eeldatav tulemus on kaks punast ja kaks rohelist signaali (2P1R).



TP53 deletsiooniga raku eeldatav tulemus on üks punane ja kaks rohelist signaali (1P2R).

Aneuploidsete/tasakaalustamata proovides võivad esineda teised signaalimustrid.

Teadaolevad asjakohased segajad / segavad ained

Asjakohaseid segajaid / segavaid aineid pole teada.

Teadaolev ristreaktiivsus

Teadaolev ristreaktiivsus puudub.

Teavitamine tõsisest juhtumist

Patsientidele / kasutajatele / kolmandatele osapooltele Euroopa Liidus ja identsete eeskirjadega riikides (määrus (EU) 2017/746 *In vitro* diagnostikameditsiiniseadmete kohta): kui seadme kasutamise käigus või seoses selle kasutamisega on leidnud aset tõsine juhtum, tuleb sellest teavitada tootjat ja riiklikku pädevat ametiasutust.

Muudes riikides tuleb tõsisest juhtumistest teavitada tootjat ja, kui see on nõutav, riiklikku pädevat ametiasutust.

Tootja järelevalve kontaktandmed: vigilance@ogt.com

Järelevalvet teostavate EU riiklike pädevate ametiasutuste loend on esitatud lehel: https://health.ec.europa.eu/medical-devices-sector/new-regulations/contacts_en

Spetsiifilised toimivuskarakteristikud

Analüütiline spetsiifilisus

Analüütiline spetsiifilisus on määratletud kui üksnes õige lookusega hübriidseeritud signaalide protsentarv. Analüüsiti kõigi viie (5) karütüüpilise mehe perifeerse vere 3:1 metanooli/atseethappe fikseeritud rakuproovide kõigi kahekümne (20) metafaasi raku nelja (4) kromosomaalset lookust, millest saadi 400 andmepunkti. Iga hübriidseeritud sondi asukoht kaardistati ja õige lookusega hübriidseeritud metafaasi kromosoomi FISH-i signaalide arv salvestati.

Arvutati komplekti iga sondi analüütilise spetsiifilisuse number, jagades õige lookusega hübriidseeritud metafaasi kromosoomi FISH-i signaalide arvu hübriidseeritud metafaasi kromosoomi FISH-i signaalide koguarvuga, saadud tulemus korrutati 100-ga, väljendati protsendina ja anti 95% usaldusvahemik.

Tabel 1. P53 (TP53)/ATM Combination Deletion Probe analüütiline spetsiifilisus

Sihtmärk	Hübriidseeritud metafaasi kromosoomide arv	Õigesti hübriidseeritud lookuste arv	Analüütiline spetsiifilisus	95% usaldusvahemik
17p13	200	200	100%	98,12–100%
11q22.3	200	200	100%	98,12–100%

Analüütiline tundlikkus

Analüütiline tundlikkus on hinnatavate interfaasi rakkude protsent eeldatava normaalse signaalmustri suhtes. Iga 25 fikseeritud lüüdirakuspensiooni korral tunnistati TP53 või ATM-i deletsiooni suhtes negatiivseks, analüüsiti vähemalt 200 interfaasi rakku, saades tulemuseks vähemalt 5000 tuuma iga proovi tüübi kohta. Tundlikkuse andmeid analüüsiti normaalse eeldatava signaalmustriga rakkude protsendi alusel ja väljendati protsendina 95% usaldusvahemikuga.

Tabel 2. P53 (TP53)/ATM Combination Deletion Probe analüütiline tundlikkus

Proovi tüüp	Tundlikkuse kriteeriumid	Tundlikkuse tulemus
Luuüdi	> 95%	96,32% (95,59%...97,05%)

Normaalse väljaarvamise piirväärtuste kirjeldus

Normaalne väljaarvamine määratletakse nende rakkude protsendina, mis näitavad valepositiivset signaalmustrit, mille korral isik loetakse normaalseks ja kliinilisele diagnoosile mittevastavaks. Iga 25 fikseeritud lüüdirakuspensiooni korral tunnistati TP53 või ATM-i deletsiooni suhtes negatiivseks, analüüsiti vähemalt 200 interfaasi rakku, saades tulemuseks vähemalt 5000 tuuma iga proovi tüübi kohta.

Väljaarvamise piirväärtus määratleti MS Excelis funktsiooniga β -inverse (BETAINV). See arvutati valepositiivset signaalmustrit näitavate interfaasi rakkude protsendina, kasutades normaalse patsiendiproovi binominaalse jaotuse ühepoolse 95% usaldusvahemiku ülemist seotust.

Tabel 3. P53 (TP53)/ATM Combination Deletion Probe normaalse väljaarvamise piirväärtuse kirjeldus

Proovi tüüp	Signaalmuster	Väljaarvamise tulemus
Luuüdi	2P1R	3,78%
	1P2R	8,97%

Laborid peavad oma andmete põhjal kinnitama väljaarvamise piirväärtused.^{7,8}

Kordustäpsus

Selle toote täpsus on mõõdetud päevisese täpsusena (proov-prooviga), päevadevahelise täpsusena (päev-päevaga) ja ühe asutuse partiidevahelise täpsusena (partii-partiiga).

Toote kordustäpsuse hindamisel kasutati kolme (3) proovi: üht normaalset luuüdi proovi (enne uuringus kasutamist FISH-i alusel negatiivne nii TP53 kui ka ATM-i deletsiooni puhul), üht nõrgalt positiivset 2P1R ATM-i deletsiooni luuüdi proovi ja üht nõrgalt positiivset 1P2R TP53 deletsiooni luuüdi proovi. Nõrgalt positiivsed luuüdi proovid konstrueeriti negatiivse luuüdi proovide osast, mida väärdati teadaoleva positiivse luuüdi prooviga, eesmärgiga luua nõrgalt positiivne proov 2–4-kordses väljaarvamise vahemikus, mida kasutati toote testimisel kindlaks tehtud väljaarvamise kontrollimisel.

Päevadevahelise ja päevisese kordustäpsuse kindlaks tegemiseks hinnati proove kümnel (10-l) mittejärjestikusel päeval ning partii-partiiga täpsuse kindlaks tegemiseks hinnati toote kolme (3) partiid sama proovi kolme (3) replikaadiga. Tulemused esitati üldise ühilduvusena prognoositud negatiivse klassiga (negatiivsete proovide korral).

Tabel 4. P53 (TP53)/ATM Combination Deletion Probe reprodutseeritavus ja kordustäpsus

Muutuja	Proovi tüüp	Ühilduvus
Päevisene (proov-prooviga) ja päevadevaheline (päev-päevaga) reprodutseeritavus	Luuüdi, negatiivne	100%
	Luuüdi, nõrgalt positiivne 2P1R (ATM-i deletsioon)	96,7%
	Luuüdi, nõrgalt positiivne 1P2R (TP53 deletsioon)	100%
Partii-partiiga reprodutseeritavus	Luuüdi, negatiivne	100%
	Luuüdi, nõrgalt positiivne 2P1R (ATM-i deletsioon)	88,9%
	Luuüdi, nõrgalt positiivne 1P2R (TP53 deletsioon)	100%

Kliiniline toimivus

Tagamaks, et toode tuvastab ettenähtud deletsiooni, tehti toote kliiniline toimivus kindlaks toote sihtpopulatsiooni esindusproove hõlmava ühe (1) retrospektiivse uuringuga: Carnoy lahus (3:1 metanool/atseetahape) fikseeritud hematoloogiliselt tuletatud rakuspensioonides, mis pärinevad kinnitatud või kahtlustatud kroonilise lümfotsütaarse leukeemiaga (CLL) patsientidelt. Uuringu proovide hulk oli kolmkümmend (30) proovi sihtpopulatsiooniga üksteist (11) positiivset ja üheksateist (19) negatiivset ATM-i deletsiooni proovi ning üksteist (11) positiivset ja üheksateist (19) negatiivset TP53 deletsiooni proovi. Kõik proovid deidentifitseeriti ja tulemusi võrreldi proovi teadaoleva olekuga. Sond tuvastas kõigil juhtudel proovi oleku õigesti.

Testide tulemusi analüüsiti ühemõõtelise meetodiga, et selgitada välja positiivsete signaalide kliinilise tundlikkuse, kliinilise spetsiifilisuse ja valepositiivsuse määra (FPR) väärtused.

Tabel 5. P53 (TP53)/ATM Combination Deletion Probe – ATM-i deletsiooni kliiniline toimivus

Muutuja	Tulemus
Kliiniline tundlikkus (true positive rate, TPR) (tõeselt positiivsete määr)	99,93%
Kliiniline spetsiifilisus (true negative rate, TNR) (tõeselt negatiivsete määr)	99,99%
Valepositiivsete määr (false positive rate, FPR) = 1–spetsiifilisus	0,01%

Tabel 6. P53 (TP53)/ATM Combination Deletion Probe – TP53 deletsiooni kliiniline toimivus

Muutuja	Tulemus
Kliiniline tundlikkus (true positive rate, TPR) (tõeselt positiivsete määr)	100,0%
Kliiniline spetsiifilisus (true negative rate, TNR) (tõeselt negatiivsete määr)	100,0%
Valepositiivsete määr (false positive rate, FPR) = 1–spetsiifilisus	0,00%

Ohutuse ja toimivuse kokkuvõte (SSP)

SSP tehakse avalikkusele ligipääsetavaks Euroopa meditsiiniseadmete andmebaasi (Eudamed) kaudu, kus see on seotud põhi-UDI-DI-ga. Eudamedi URL: <https://ec.europa.eu/tools/eudamed> Põhi-UDI-DI: 50558449LPH052JJ

Kui Eudamed ei toimi täielikult, tehakse OTK avalikkusele ligipääsetavaks nõudmisel meili teel SSP@ogt.com.

Lisateave

Lisateavet saate, kui võtate ühendust ettevõtte CytoCell tehnilise toe osakonnaga. Tel: +44 (0)1223 294048 E-post: techsupport@cytoCELL.com Veebisait: www.ogt.com

Viited

- Dohner, et al. N Eng J Med. 2000;343:1910-1916.
- Rossi D, et al. Blood. 2013 Feb 21;121(8):1403-12.
- Baliakas P, et al. Leukemia. 2014;(April):1-8.
- WHO Classification of Tumours Editorial Board. Haematolymphoid tumours [Internet; beta version ahead of print]. Lyon (France): International Agency for Research on Cancer; 2022 [cited 2023 December 18]. (WHO classification of tumours series, 5th ed.; vol. 11). Available from: <https://tumourclassification.iarc.who.int/chapters/63>
- Stankovic, et al., Blood. 2004;103(1):291-300.
- Arsham, MS., Barch, MJ. and Lawce HJ. (eds.) (2017) The AGT Cytogenetics Laboratory Manual. New Jersey: John Wiley & Sons Inc.
- Mascarello JT, Hirsch B, Kearney HM, et al. Section E9 of the American College of Medical Genetics technical standards and guidelines: fluorescence in situ hybridization. Genet Med. 2011;13(7):667-675.
- Wiktor AE, Van Dyke DL, 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.

Sümbolite sõnastik

EN ISO 15223-1:2021 – „Meditsiiniseadmed – Sümbolid, mida kasutatakse koos tootja poolt esitatava teabega – 1. osa: Üldnõuded“ (© International Organization for Standardization)		
Sümbol	Pealkiri	Viitenumber (- numbrid)
	et: Tootja	5.1.1
	et: Volitatud esindaja Euroopa Ühenduses / Euroopa Liidus	5.1.2
	et: Kõlblik kuni	5.1.4
	et: Partii number	5.1.5
	et: Kataloogi number	5.1.6
	et: Hoidke päikesevalguse eest kaitstult	5.3.2
	et: Temperatuuripiirang	5.3.7
	et: Vt kasutusjuhised	5.4.3

 oqt.com/IFU	et: Lugege elektroonilist kasutusjuhendit	5.4.3
	et: Hoiatus!	5.4.4
	et: <i>In vitro</i> diagnostikameditsiiniseade	5.5.1
	et: Sisaldus piisav <n> analüüsi jaoks	5.5.5
	et: Seadme unikaalne identifikaator	5.7.10
IVD reaktiivide ja komponentide EDMA sümbolid, 2009. a oktoobri väljaanne		
Sümbol	Pealkiri	Viitenumber (-numbrid)
	et: Sisu (või sisaldab)	Ei kohaldata

Patendid ja kaubamärgid

CytoCell on ettevõtte CytoCell Limited registreeritud kaubamärk.



Cytocell Limited

Oxford Gene Technology
418 Cambridge Science Park
Milton Road
CAMBRIDGE
CB4 0PZ
ÜHENDKUNINGRIIK

Tel: +44 (0)1223 294048

E-post: probes@cytoCell.com

Veebisait: www.oqt.com



Sysmex Europe SE

Deelböge 19 D
22297 Hamburg
SAKSAMAA

Veebisait: www.sysmex-europe.com

Kasutusjuhendi versioonialalugu

V001 2023-01-11: Uus kasutusjuhend kooskõlas määrusega (EL) 2017/746

V002 2025-08-29: UKCA märgi eemaldamine

V003 2025-09-09: Uuendus ELi volitatud esindaja aadressile. ELi volitatud esindaja telefoninumbri eemaldamine. OGT fakside numbri eemaldamine