A Sysmex Group Company

CytoCell

Käyttöohje

VIITE: CE-LPH 011-S / CE-LPH 011

ATM Deletion Probe

CE IVD
2797

VAIN AMMATTIKÄYTTÖÖN

ogt.com/IFU

Lisätietoja ja muita kieliä saatavilla osoitteesta ogt.com/IFU

Käyttötarkoitus
CytoCell® ATM Deletion Probe -koetin on kvalitatiivinen, ei-automatisoitu FISH (fluorescence *in situ* hybridisation) -testi, jota käytetään kromosomien deleetioiden havaitsemiseen kromosomin 11 alueella 11q22.3 Carnoyn liuokseen (3:1 metanoli/etikkahappo) fiksoiduille, hematologisesti johdetuille solususpensioille potilailta, joilla on vahvistettu tai epäilty krooninen lymfaattinen leukemia (CLL).

Käyttöaihe
Tämä laite on suunniteltu käytettäväksi muiden kliinisten ja histopatologisten testien lisäksi vakiintuneissa diagnostiikan ja kliinisen hoidon hoitopoluissa, joissa *ATM*-deleetion tilan tunteminen olisi tärkeää kliiniselle hoidolle.

Rajoitukset
Laite on suunniteltu havaitsemaan genomien puuttumista suuremmalta alueelta kuin tämän koetinsarjan punaisen kloonin kattama alue, johon sisältyy *ATM*-alue. Tämä laite ei ehkä havaitse kyseisen alueen ulkopuolisia genomin puutteita tai tämän alueen osittaisia puutteita.
Tätä laitetta ei ole tarkoitettu käytettäväksi riippumattomaan diagnostiikkaan, kytkösdiagnostiikkana, raskausajan tutkimuksiin, väestöpohjaiseen seulontaan, vieritestaukseen tai itsetestaukseen.
Tätä laitetta ei ole validoitu muille kuin käyttötarkoituksessa ilmoitetuille näytetyypeille, tautityypeille tai käyttökohteille.
Se on tarkoitettu muiden diagnostisten laboratoriotestien apuvälineeksi, eikä hoitotoimia saa käynnistää yksinomaan FISH-tuloksen perusteella.
Soveltuvan pätevyyden saaneen henkilöstön tekemän FISH-tulosten raportoinnin ja tulkinnan on oltava yhdenmukainen ammattimaisten käytäntöstandardien kanssa, ja niissä on otettava huomioon muut olennaiset testitulokset ja kliiniset ja diagnostiset tiedot.
Tämä laite on tarkoitettu ainoastaan ammattimaiseen laboratoriokäyttöön.
Mikäli protokollaa ei noudateta, se saattaa vaikuttaa suorituskykyyn ja johtaa virheellisiin positiivisiin/negatiivisiin tuloksiin.

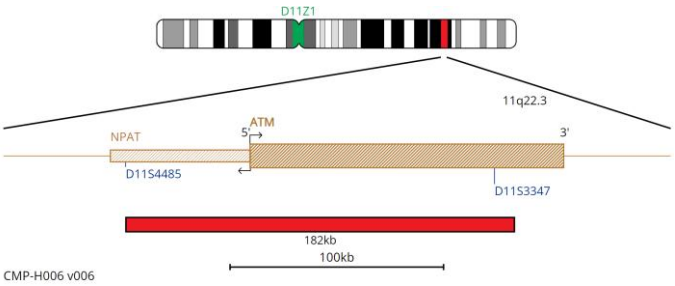
Testin periaatteet
Fluoresenssi *in situ* -hybridisaatio (FISH) on tekniikka, jonka avulla DNA-sekvenssejä voidaan havaita metafaasikromosomeista tai fiksoitujen sytogeneettisten näytteiden interfaasitumista. Tekniikassa käytetään DNA-koettimia, joiden avulla hybridisaatio koskee kokonaisia kromosomeja tai yksittäisiä, ainutkertaisia sekvenssejä ja jotka toimivat tehokkaana sytogeneettisen G-raita-analyysin apuvälineenä. Tätä tekniikkaa voidaan nyt käyttää olennaisena tutkimustyökaluna raskauden aikaiseen, hematologiseen ja kiinteiden tuumorien kromosomianalyysiin. Kohde-DNA on fiksaation ja denaturaation jälkeen saatavilla palautumiseksi samalla tavoin denaturoituun, fluoresenssimerkittyyn DNA-koettimeen, jolla on täydentävä sekvenssi. Hybridisaation jälkeen sitomaton ja muu kuin spesifisesti sidottu DNA-koetin poistetaan, ja DNA vastavärjätään visualisointia varten. Sen jälkeen hybridisoitu koetin voidaan visualisoida fluoresenssimikroskopian avulla kohdemateriaalissa.

Koettimen tiedot
ATM-proteiinikinaasigeeni (*ATM-seriini/treoniinikinaasi*) paikassa 11q22.3 on usein deletoitunut B-solujen kroonisen lymfaattisen leukemian (CLL) tapauksissa. *ATM* on tärkeä kontrollipistegeeni, joka on mukana solujen vaurioitumisen hallinnassa. Sen tehtävä on arvioida solun DNA-vaurion tasoa ja yrittää sen korjausta DNA-vaurion korjausreittiin kuuluvien tärkeimpien substraattien fosforylaatiolla[1].

B-CLL on aikuisten yleisin leukemiatyyppi, ja sen eteneminen voi vaihdella hyvin hitaasta nopeasti etenevään. Leukemiasolujen vähäisen *in vitro* mitoosiaktiviteetin vuoksi klonaaliset kromosomipoikkeamat havaitaan 40–50 prosentissa[2] tapauksista perinteisellä sytogenetiikalla käyttäen B-solujen mitogeenejä, kun taas FISH-analyysi havaitsee kromosomipoikkeamat noin 80 prosentissa[2] B-CLL-tapauksista. *ATM:n* ja/tai *TP53:n* deleetioiden seulonta on ehdottoman tärkeää, jotta voidaan mahdollistaa oikeaan tietoon perustuvat B-CLL-potilaiden hoitoratkaisut, sillä *TP53*- ja *ATM*-deleetiot aiheuttavat huonommat ennusteet tässä sairaudessa[4]. Näin ollen FISH-analyysi onkin osoittautunut tehokkaaksi työkaluksi B-CLL-potilaiden diagnosoinnissa ja hoidon hallinnassa[2,3,4].

ATM/TP53-vuorovaikutuksen analyysi B-CLL-tapauksissa on osoittanut, että *TP53* ja *ATM* ovat merkittäviä lymfaattisen syövän leviämisessä[1]. On osoitettu, että *ATM* tehostaa *TP53:n* fosforylaatiota, jos vaurio on niin suuri, että solu on tuhottava apoptoosilla (jota *TP53* säätelee). *ATM:n* deleetio poistaa tämän kontrollipistetoiminnon ja siten *TP53:n* aktivoitumisen. Näin ollen mitään korjausyritystä ei tehdä, eikä vaurioituneiden solujen apoptoosia tapahdu *TP53:n* läsnäolosta huolimatta. Jos *ATM* puuttuu, vaurioituneet solut saavat jatkaa lisääntymistään[5].

Koettimen tekniset tiedot
ATM, 11q22.3, punainen
D11Z1, 11p11.11-q11, vihreä



ATM-koetin on 182 kb, leimattu punaisella, ja se kattaa *NPAT*-geenin telomeerisen puolen ja *ATM*-geenin sentromeerisen puolen juuri D11S3347-markkerin yli. Koetinseoksessa on myös vihreällä leimattu kontrollikoetin 11-sentromeerille (D11Z1).

Toimitettavat materiaalit
Koetin: 50 µl pulloa kohti (5 testiä) tai 100 µl pulloa kohti (10 testiä)
Koettimet toimitetaan ennalta sekoitettuna hybridisaatioliuokseen (< 65 % formamidia, < 20 mg dekstraanisulfaattia, < 10 % 20x-suolaliuos-natriumsitraattia (SSC)), ja ne ovat valmiita käytettäväksi.

Vastaväri: 150 µl pulloa kohti (15 testiä)
Vastaväri on DAPI Antifade ES (0,125 µg/ml DAPI (4,6-diamidiini-2-fenyyli-indoli) glyserolipohjaisessa preparointiaineessa).

Varoitukset ja varotoimet
1. *In vitro* -diagnostiseen käyttöön. Vain ammattikäyttöön laboratoriossa.
2. Koetinseokset sisältävät formamidiä, joka on teratogeeni: älä hengitä höyryjä sisään tai päästä ainetta kosketuksiin ihon kanssa. Käsiteltävä varoen: käytä käsineitä ja laboratoriotakkia.
3. Käsittele DAPIa varoen: käytä käsineitä ja laboratoriotakkia.
4. Ei saa käyttää, jos pullo on vaurioitunut tai jos pullon sisältö on voinut vahingoittua millään tavalla.
5. Hävitä tämä tuote turvallisesti noudattaen hävittämistä koskevia paikallisia määräyksiä ja käyttöturvallisuustiedotteessa annettuja suosituksia. Tämä koskee myös vahingoittunutta testisarjan sisältöä.
6. Hävitä kaikki käyttämätön reagenssi ja muu kontaminoitunut kertakäyttömateriaali tartuntavaarallista tai mahdollisesti tartuntavaarallista jätettä koskevien ohjeistusten mukaisesti. Kunkin laboratorion vastuulla on käsitellä kiinteää ja nestemäistä jätettä sen luonteen ja vaarallisuusasteen mukaisesti ja noudattaa sen käsittelyssä ja hävittämisessä sovellettavia määräyksiä (tai varmistaa niiden noudattaminen).
7. Käyttäjien on pystyttävä erottamaan toisistaan punainen, sininen ja vihreä.
8. Mikäli hahmoteltua protokollaa ei noudateta ja sen mukaisia reagensseja ei käytetä, se saattaa vaikuttaa suorituskykyyn ja johtaa virheellisiin positiivisiin/negatiivisiin tuloksiin.
9. Koetinta ei saa laimentaa tai sekoittaa muiden koetinten kanssa.
10. Mikäli 10 µl:n koetinta ei käytetä protokollan esidenaturaatiovaiheessa, se saattaa vaikuttaa suorituskykyyn ja johtaa virheellisiin positiivisiin/negatiivisiin tuloksiin.
11. Kaikki tuotteet on validoitava ennen käyttöä.
12. Sisäiset kontrollit on suoritettava käyttämällä muuttumattomia solupopulaatioita testinäytteissä.

Lämpötilojen tarkemmat määritelmät
- –20 °C / pakastettu / pakastimessa: –25...–15 °C
- 37 °C: +37 °C ±1 °C
- 72 °C: +72 °C ±1 °C
- 75 °C: +75 °C ±1 °C
- Huoneenlämpötila: +15...+25 °C

Säilytys ja käsittely



Sarjaa on säilytettävä pakastimessa –25...–15 ºC:n lämpötilassa sarjan etiketissä ilmoitettuun eräpäivään saakka. Koetinta ja vastaväripulloja on säilytettävä pimeässä.



FISH-koetin, DAPI Antifade ES -vastaväri ja hybridisaatioliuos pysyvät stabiileina normaalissa käytössä tapahtuvien pakastus- ja sulatusjaksojen ajan (kun yhden jakson aikana pullo poistetaan pakastimesta ja laitetaan takaisin pakastimeen) – 5 jaksoa 50 µl:n (5 testin) pullolle FISH-koetinta, 10 jaksoa 100 µl:n (10 testin) pullolle FISH-koetinta ja 15 jaksoa 150 µl:n (15 testin) pullolle vastaväriä. Altistumista valolle on vältettävä ja minimoitava mahdollisuuksien mukaan. Säilytä komponentteja pakkauksen sisältämässä valonpitävässä säiliössä. Komponentit, joita on käytetty ja säilytetty pakkausmerkintöjen ohjeista poikkeavissa olosuhteissa, eivät välttämättä toimi odotetulla tavalla ja saattavat vääristää määrityksen tuloksia. On ryhdyttävä kaikkiin mahdollisiin toimenpiteisiin valolle ja lämpötilan muutoksille altistumisen rajoittamiseksi.

Tarvittavat laitteet ja materiaalit, jotka eivät sisälly pakkaukseen

Kalibroitua laitteistoa on käytettävä:

1. Lämpölevy (kiinteällä levyllä ja tarkalla lämpötilan hallinnalla 80 ºC:n lämpötilaan saakka)
2. Kalibroidut tilavuudeltaan vaihtelevat mikropipetit ja kärjet, 1–200 µl
3. Vesikylpy tarkalla lämpötilan hallinnalla 37 ºC:n ja 72 ºC: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 mikroskooppilinssin immersioöljy
12. Työpöytäsentrifugi
13. Mikroskooppiobjektilasi
14. 24 x 24 mm:n peitelasit
15. Ajastin
16. 37 ºC: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 öljyimmersiosuunnitelman 60/63x- tai 100x-apokromaattiobjektiiveja parhaaseen mahdolliseen visualisointiin. Tässä koetinsarjassa käytettävät loisteaineet virittyvät ja säteilevät seuraavilla aaltopituuksilla:

Loisteaine	$Viritys_{maks}$ [nm]	$Emissio_{maks}$ [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 kaksoiskaistanpäästösuodatinta 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 häipymistä ehkäisevän DAPIn sekoittamista mikroskoopin immersioöljyn kanssa, sillä se hämärtää signaaleita. Noudata valmistajien suosituksia lampun käyttöiän ja suodatinten iän suhteen.

Näytteen valmistelu

Sarja on suunniteltu käytettäväksi Carnoyn liuosfiksatiiviin (3:1 metanoli/etikkahappo) fiksoituihin, hematologisesti johdettuihin solususpensioihin, jotka on valmisteltu laboratorion tai laitoksen suuntaviivojen mukaisesti. Valmistele ilmakuivatut näytteet mikroskoopin objektiivilaseille sytogeneettisten vakiotoimenpiteiden mukaisesti. AGT-*sytogenetiikkalaboratorion opaskirja* sisältää suosituksia näytteen keräämisestä, viljelystä, poiminnasta ja objektiivilasien valmistelusta[6].

Liuoksen valmistus

Etanoliliuokset

Laimenna 100 % etanoli akkuvedellä 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 laboratoriovaloille on aina rajallista).

Objektiivilasin valmistelu

1. Laita pisara solunäytettä mikroskooppiobjektilasille. Anna kuivua. (**Valinnaista, jos käytetään sytogeneettistä kuivauskammiota**: Kammiota on käytettävä noin 25 °C:n lämpötilassa ja 50 %:n kosteudessa, jotta solunäytepisara voidaan asettaa optimaalisesti lasille. Mikäli sytogeneettistä kuivauskammiota 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 esilämpiämään 37 ºC:n (+/- 1 ºC) 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 lämpölevyllä 2 minuutin ajan 75 ºC:n (+/- 1 ºC) lämpötilaan.

Hybridisaatio

11. Laita objektiivilasi yöksi kosteaan valonkestävään säiliöön 37 ºC:n (+/- 1 ºC) 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 ºC:n (+/- 1 ºC) 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 häipymistä ehkäisevää DAPIa.
17. Peitä peitelasilla, poista mahdolliset kuplat ja anna värin kehittyä pimeässä 10 minuuttia.
18. Tarkastele fluoresenssimikroskoopilla (katso **Fluoresenssimikroskooppisuositus**).

Toimenpidesuositukset

1. Objektiivilasien sintraaminen tai ikäännyttäminen saattaa heikentää signaalien fluoresenssia.
2. Muiden kuin Cytocell Ltd -yhtiön toimittamien tai suosittelemien reagenssien käyttö saattaa vaikuttaa haitallisesti hybridisaatio-olosuhteisiin.
3. Käytä liuosten, vesikylpyjen ja inkubaattorien lämpötilojen mittaukseen kalibroitua lämpömittaria, sillä nämä lämpötilat ovat ratkaisevan tärkeitä tuotteen optimaalisen suorituskyvyn kannalta.
4. Pesupitoisuudet, pH-arvo ja lämpötilat ovat tärkeitä, sillä liiallinen löyhyys saattaa johtaa koettimen epäspesifiseen sitoutumiseen ja liiallinen ankaruus signaalin puuttumiseen.
5. Epätäydellinen denaturaatio saattaa johtaa signaalin puuttumiseen ja liiallinen denaturaatio saattaa myös johtaa epäspesifiseen sitoutumiseen.
6. Liiallinen hybridisaatio saattaa johtaa ylimääräisiin tai odottamattomiin signaaleihin.
7. Käyttäjien on optimoitava omien näytteidensä protokolla ennen testin käyttöä diagnostisiin tarkoituksiin.
8. Suboptimaaliset olosuhteet saattavat johtaa epäspesifiseen sitoutumiseen, jotka saatetaan tulkita koetinsignaaliksi.

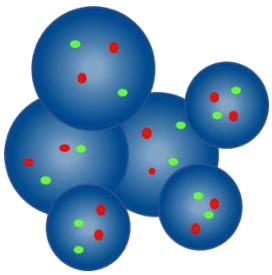
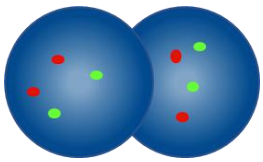
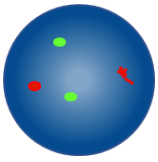
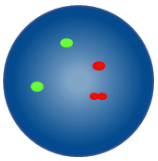
Tulosten tulkitseminen

Objektiivilasin laadun arviointi
Objektiivilasia ei tarvitse analysoida, jos:

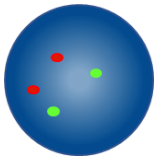
- yksittäisten suodatinten signaalit ovat liian heikkoja analysoitavaksi – jotta analyysia voidaan jatkaa, signaalien on näyttävä kirkkaina, selkeinä ja helposti arvioitavina
- analyysia vaikeuttaa suuri määrä yhteen kasautuneita / päällekkäisiä soluja
- >50 % soluista ei ole hybridisoituneita
- solujen välissä on liikaa fluoresoivia hiukkasia ja/tai fluoresoivaa utua, joka häiritsee signaaleita – optimaalisissa objektiivilaseissa taustan pitäisi näkyä tummana tai mustana ja puhtaana
- solun 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 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 muiksi kuin uudelleenjärjestellyiksi/fuusioituneiksi, jos punaisen ja vihreän signaalin välinen rako on enintään kahden signaalileveyden kokoinen.
- Analysoitaessa kolmevärisiä irrotettavia koettimia signaalit on laskettava muiksi kuin uudelleenjärjestellyiksi/fuusioituneiksi, jos jonkin kolmesta signaalista (punainen, vihreä, sininen) välissä on enintään kahden signaalileveyden kokoinen rako.
- Mikäli on epäilystä siitä, voidaanko solu analysoida, älä analysoi sitä.

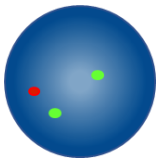
Analysointiohjeet	
	Älä laske – tumat ovat liian lähekkäin, jotta rajoja voisi määrittää
	Älä laske päällekkäisiä tumia – kummankin tuman kaikki alueet eivät ole näkyvissä
	Laske kahdeksi punaiseksi signaaliksi ja kahdeksi vihreäksi signaaliksi – toinen kahdesta punaisesta signaalista on hajanainen
	Laske kahdeksi punaiseksi signaaliksi ja kahdeksi vihreäksi signaaliksi – toisen punaisen signaalin rako on pienempi kuin kaksi signaalileveyttä

Odotettavissa olevat tulokset
Odotettavissa oleva normaali signaalikuvio



Tavallisessa solussa on odotettavissa kaksi punaista ja kaksi vihreää signaalia (2P2V).

Odotettavissa oleva epänormaali signaalikuvio



ATM-deleetion sisältävässä solussa on odotettavissa yksi punainen ja kaksi vihreää signaalia (1P2V).

Muut signaalikuviot ovat mahdollisia aneuploidisissa/epätasapainoisissa näytteissä.

Tunnetut olennaiset häiriöt / häiritsevät aineet
Ei tunnettuja olennaisia häiriöitä / häiritseviä aineita.

Tunnettu ristireaktiivisuus
Vihreä D11Z1-koetin voi näyttää ristihybridisaatiosignaalit 1c:lle, Xc:lle ja 17c:lle.

Vakavista vaaratilanteista ilmoittaminen
Potilaan / käyttäjän / kolmannen osapuolen, joka on Euroopan unionissa tai maassa, jossa on vastaava säädös (asetus (EU) 2017/746 *in vitro* -diagnostisista lääkinnällisistä laitteista), on ilmoitettava valmistajalle ja kansalliselle toimivaltaiselle viranomaiselle, mikäli tämän laitteen käytön aikana tai sen käytön seurauksena tapahtuu vakava vaaratilanne.
Muissa maissa tapahtuneista vakavista vaaratilanteista on ilmoitettava valmistajalle ja soveltuvin osin kansalliselle toimivaltaiselle viranomaiselle.
Valmistajan yhteystiedot vaaratilanteissa: vigilance@ogt.com
Luettelo vaaratilanteita käsittelevien EU:n kansallisten toimivaltaisten viranomaisten yhteystiedoista on seuraavassa osoitteessa:
https://health.ec.europa.eu/medical-devices-sector/new-regulations/contacts_en

Erityiset suorituskykyominaisuudet
Analyyttinen spesifisyys
Analyyttinen spesifisyys on niiden signaalien prosenttiosuus, jotka hybridisoidaan oikeaan lokukseen eikä muihin sijainteihin. Neljä kromosomin lokusta jokaisessa 20 metafaasisolussa analysoitiin viidestä näytteestä, jolloin saatiin 400 tietopistettä. Jokaisen hybridisoituneen koettimen paikka kartoitettiin, ja oikeaan lokukseen hybridisoituneiden metafaasikromosomien FISH-signaalien lukumäärä kirjattiin.

Kunkin sarjan koettimen analyyttinen spesifisyys laskettiin sellaisten metafaasikromosomien FISH-signaalien määräksi, jotka hybridisoituvat oikeaan lokukseen jaettuna hybrisoituneiden metafaasikromosomien FISH-signaalien kokonaismäärällä. Tulos kerrottiin 100:lla, ilmaistiin prosenttilukuna ja sille määritettiin 95 prosentin luottamusväli.

Taulukko 1. ATM Deletion Probe -koettimen analyyttinen spesifisyys

Kohde	Hybridisoituneiden metafaasikro-mosomien lukumäärä	Oikein hybridisoi-tuneiden lokusten lukumäärä	Analyyttinen spesifisyys	95 %:n luottamusväli
11q22.3	200	200	100 %	98,12–100 %
11p11.11-11q11	200	200	100 %	98,12–100 %

Analyyttinen herkkyys
Analyyttinen herkkyys on niiden tulosten laskennassa käytettävien interfaasisolujen prosenttiosuus, joiden odotettavissa oleva signaalikuvio on normaali. Vähintään 100 interfaasisolua analysoitiin jokaisesta 25 fiksoidusta luuydinsolususpensiosta ja 25 fiksoidusta ääreisverisolususpensiosta, jolloin saatiin vähintään 2500 tumaa näytetyyppiä kohden. Herkkyystiedot analysoitiin niiden solujen prosenttimäärän perusteella, jotka osoittivat normaalia odotettavissa olevaa signaalikuviota, ja tulos ilmaistiin prosenttiosuudella sekä 95 prosentin luottamusvälillä.

Taulukko 2. ATM Deletion Probe -koettimen analyyttinen herkkyys

Näytteen tyyppi	Herkkyyden kriteerit	Herkkyyden tulos
Luuydin	>95 %	97,48 % (96,58–98,38 %)
Ääreisveri	>95 %	96,88 % (95,60–98,16 %)

Normaalien raja-arvojen luokittelu
Normaaliksi raja-arvoksi määritettiin niiden solujen prosenttiosuus, joissa esiintyi väärä positiivinen signaalikuvio, jolloin henkilöä pidettäisiin normaalina eikä

kliinisen diagnoosin mukaisena. Vähintään 100 interfaasisolua analysoitiin jokaisesta 25 fiksoidusta luuydinsolususpensiosta ja 25 fiksoidusta ääreisverisolususpensiosta, jolloin saatiin vähintään 2500 tumaa näytetyyppiä kohden.

Raja-arvo määritettiin käyttäen MS Excelin käänteistä β-funktiota (BETAINV). Se laskettiin niiden interfaasisolujen prosenttiosuutena, joissa ilmeni väärä positiivinen signaalikuvio, käyttäen tavallisen potilasnäytteen binomijakauman yksipuolisen 95 prosentin luottamusvälin ylärajaa.

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

Näytteen tyyppi	Raja-arvojen tulos
Luuydin	9,77 %
Ääreisveri	10,58 %

Laboratorioiden on tarkistettava raja-arvot käyttäen omia tietojaan[7,8].

Tarkkuus
Tämän tuotteen tarkkuus on mitattu päivän sisäisellä tarkkuudella (näytteiden kesken), päivien välisellä tarkkuudella (päivien kesken) sekä yhden kohteen erien välisellä tarkkuudella (erien kesken).

Tämän tuotteen tarkkuus arvioitiin kahdella näytteellä: negatiivista luuydinnäytettä ja yhdistettyä heikosti positiivista luuydinnäytettä, jota käytettiin tuotteen haastamiseen määritetyn raja-arvon ympärille.

Päivien välisen ja päivän sisäisen tarkkuuden määrittämiseksi näytteet arvioitiin 10 ei-peräkkäisen päivän ajalta. Erien välisen tarkkuuden määrittämiseksi kolme tuote-erää arvioitiin kolmesta saman näytteen replikaatista. Tulokset esitettiin yleisenä yhtäpitävyytenä ennakoidun negatiivisen luokan kanssa (negatiivisten näytteiden osalta).

Taulukko 4. ATM Deletion Probe -koettimen uusittavuus ja tarkkuus

Muuttuja	Näytteen tyyppi	Yhtäpitävyys
Päivän sisäinen (näytteestä toiseen) ja päivien välinen (päivästä toiseen) uusittavuus	Luuydin, negatiivinen	100 %
	Luuydin, heikosti positiivinen	100 %
Erien välinen uusittavuus	Luuydin, negatiivinen	100 %
	Luuydin, heikosti positiivinen	100 %

Kliininen suorituskyky
Sen määrittämiseksi, havaitseeko tuote aiottuja uudelleenjärjestymiä, kliininen suorituskyky määritettiin suorittamalla kolme tutkimusta edustaville otoksille tuotteen aiotusta populaatioista: 3:1 metanoli/etikkahappofiksatiivilla fiksoidusta materiaalista, joka oli peräisin hematologisesti johdetuista näytteistä. Tutkimuksen otannan koko oli 27 näytettä ja kohdepopulaatio 13 positiivista näytettä ja 14 negatiivista näytettä, jotka sisälsivät 11 negatiivista luuydinnäytettä, 3 negatiivista ääreisverinäytettä, 10 positiivista luuydinnäytettä ja 3 positiivista ääreisverinäytettä. Koetin tunnisti oikein näytteiden tilan kaikissa tapauksissa.

Näiden testien tulokset analysoitiin, jotta saatiin kliinisen herkkyyden, kliinisen spesifisyyden ja väärien positiivisten osuuden (FPR) arvot positiivisille signaaleille, käyttäen yksidimensionaalista lähestymistapaa.

Taulukko 5. ATM Deletion Probe -koettimen kliininen suorituskyky

Muuttuja	Tulos
Kliininen herkkyys (oikeiden positiivisten osuus, TPR)	100,00 %
Kliininen spesifisyys (oikeiden negatiivisten osuus, TNR)	100,00 %
Väärien positiivisten osuus (FPR) = 1 – spesifisyys	0,00 %

Yhteenveto turvallisuudesta ja suorituskyvystä (SSP)
SSP tulee yleisön saataville eurooppalaisen lääkinnällisten laitteiden tietokannan (Eudamed) kautta, mistä se on haettavissa Basic UDI-DI -tunnisteella.
Eudamedin URL-osoite: https://ec.europa.eu/tools/eudamed
Basic UDI-DI: 50558449LPH011J4

Jos Eudamed ei ole täysin toiminnallinen, SSP saatetaan yleisön saataville pyynnöstä sähköpostitse osoitteeseen SSP@ogt.com.

Lisätietoja
Tuotteita koskevia lisätietoja on saatavilla ottamalla yhteyttä CytoCell teknisen tuen osastoon.3-site Inter
Puh.: +44 (0)1223 294048
Sähköposti: techsupport@cytocell.com
Verkkosivut: www.ogt.com

Viitteet

1. Stankovic, *et al*. Blood. 2004;103(1):291-300.
2. Dohner, *et al*. N Eng J Med. 2000;343:1910-1916.
3. Zent, *et al*. Blood. 2010;115(21):4154-4155.
4. Rossi, *et al*. Blood. 2013;121(8):1403-1412.
5. Khanna, *et al*. Nature Genetics. 1998;20(4):398-400.
6. Arsham, MS., Barch, MJ. and Lawce HJ. (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.

Symbolisanasto

EN ISO 15223-1:2021 – ”Lääkinnälliset laitteet – Valmistajan toimittamissa tiedoissa käytettävät symbolit. Osa 1: Yleiset vaatimukset” (© International Organization for Standardization)		
Symboli	**Nimike**	**Viitenumero(t)**
	**fi:** Valmistaja	5.1.1
	**fi:** Valtuutettu edustaja Euroopan yhteisön / Euroopan unionin alueella	5.1.2
	**fi:** Käytön eräpäivä	5.1.4
	**fi**: Eräkoodi	5.1.5
	**fi:** Kuvastonumero	5.1.6
	**fi:** Pidettävä poissa auringonvalosta	5.3.2
	**fi:** Lämpötilaraja	5.3.7
	**fi:** Tutustu käyttöohjeisiin	5.4.3
 ogt.com/IFU	**fi:** Tutustu sähköisiin käyttöohjeisiin	5.4.3
	**fi:** Huomio	5.4.4
	**fi:** *In vitro* -diagnostinen lääkinnällinen laite	5.5.1
	**fi:** Riittävä sisältö <n> testiin	5.5.5
	**fi:** Yksilöllinen laitetunniste	5.7.10
IVD-reagensseja ja -osia koskevat EDMA-symbolit, lokakuun 2009 versio		
Symboli	**Nimike**	**Viitenumero(t)**
	**fi:** Sisältö (tai sisältää)	–

Patentit ja tavaramerkit
CytoCell on Cytocell Limited -yhtiön rekisteröity tavaramerkki.

Cytocell Limited
Oxford Gene Technology
418 Cambridge Science Park
Milton Road
CAMBRIDGE
CB4 0PZ
YHDISTYNYT KUNINGASKUNTA

Puh.: +44 (0)1223 294048
Sähköposti: probes@cytocell.com
Verkkosivut: www.ogt.com

EC REP

Sysmex Europe SE
Deelböge 19 D
22297 Hamburg
SAKSA

Verkkosivut: www.sysmex-europe.com

Käyttöohjeen versiohistoria
V001 2026-10-29: Uusi käyttöohje asetuksen (EU) 2017/746 vuoksi