



A Sysmex Group Company



Käyttöohje

REF: LPH 006-S / LPH 006

13q14.3 Deletion Probe -koetin



VAIN AMMATIKÄYTTÖÖN



www.cytocell.com

Lisätietoja ja muita kieliä saatavilla osoitteesta www.ogt.com

Rajoitukset

Tämän laitteen tarkoitus on havaita genomien puutteita, jotka ovat suurempia kuin tämän koetinsetin punaisen kloonin kattama alue, johon sisältyy 13q14.3-alue. Tämä tuote ei ehkä havaitse kyseisen alueen ulkopuolisia genomien puutteita tai tämän alueen osittaisia puutteita.

Testiä ei ole tarkoitettu käytettäväksi riippumattomaan diagnostiikkaan, raskausajan tutkimuksiin, väestöpohjaiseen seulontaan, vieritestaukseen tai itsetestaukseen. Tämä tuote on tarkoitettu ainoastaan ammattimaiseen laboratoriokäyttöön; soveltuvan pätevyyden saaneen henkilöstön on tulkittava kaikki tulokset ottaen huomioon muut asiaankuuluvat testitulokset.

Tätä tuotetta ei ole validoitu käytettäväksi sellaisen näyte- tai tautityypin kohdalla, joita ei ole määritetty aiotussa käyttötarkoituksessa.

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 laboratoriostien 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 13q14.3 Deletion Probe -koetin on kvalitatiivinen, ei-automatisoitu FISH (fluorescence *in situ* hybridisation) -testi, jolla havaitaan kromosomien deleetioita kromosomin 13 alueella 13q14.2-q14.3 Carnoy'n liuokseen (3:1 metanolia/etikahappoa) fiksatoituissa, hematologisesti johdetuissa solususpensioissa potilailta, joilla on vahvistettu tai epäilty krooninen lymfaattinen leukemia (CLL) tai multipplel myelooma (MM).

Käyttöaiheet

Tämä tuote on suunniteltu käytettäväksi muiden kliinisten ja histopatologisten testien lisäksi vakiintuneissa diagnostiikan ja kliinisen hoidon hoitopoluissa, joissa 13q14.3-deleetion tilan tuntemus olisi tärkeää kliiniselle hoidolle.

Testin periaatteet

Floresenssi *in situ* -hybridisaatio (FISH) on tekniikka, jonka avulla DNA-sekvenssejä voidaan havaita metafaseikromosomeista 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 vastavärsäätään visualisointia varten. Sen jälkeen hybridisoitu koetin voidaan visualisoida fluoresenssimikroskopian avulla kohdemateriaalissa.

Koettimen tiedot

Uudelleenjärjestymät, jotka johtavat kromosomin 13 pitkän haaran puuttumiseen osittain tai kokonaan, ovat yleisiä monissa hematologisissa häiriöissä.

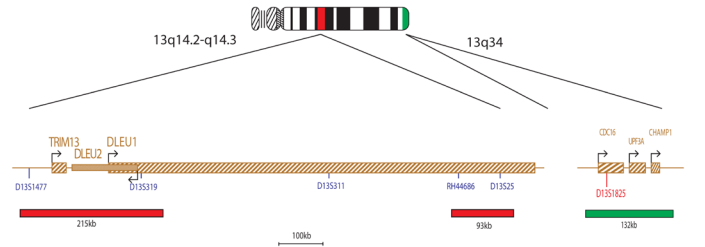
Kromosomin 13q poikkeamia ilmenee 16–40 prosentissa multipplel myelooman (MM) tapauksista. Useimmiten kyseessä on täysi monosomia 13 (85 %), kun taas lopuissa 15 prosentissa esiintyy 13q:n deleetio^{1, 2, 3}. Multipplel myeloomaa sairastavilla potilailla tehty tapaustutkimus rajasi kriittisen deleetioalueen 13q14:ksi⁴. Historiallisesti 13q:n deleetiot on liitetty huonoon MM-ennusteeseen, mutta nykyisin uskotaan, että sen prognostinen merkitys voi olla yhteydessä sen esiintymiseen samanaikaisesti muiden geneettisten leesioiden kanssa^{3,5}.

Deleetiot, jotka vaikuttavat alueeseen 13q14, ovat myös yleisin rakenteellinen geneettinen poikkeama kroonisessa lymfaattisessa leukemiassa (CLL)^{6,7,8}. Alueen todetaan olevan heterotsygoottisesti deleetionut 30–60 prosentilla ja homotsygoottisesti deleetionut 10–20 prosentilla CLL-potilaista⁹. Eloonjäämisprosentin on todettu olevan samanlainen kummallakin potilasryhmällä¹⁰. Potilaat, joilla on 13q14-deleetioita, on luokiteltu hyvin pienen riskin potilaiksi, ellei heillä ole muita geneettisiä vaurioita¹¹.

Kaksi ei-koodittavaa RNA-geeniä, DLEU1 (*deleetionut lymfaattisessa leukemiassa 1*) ja DLEU2 (*deleetionut lymfaattisessa leukemiassa 2*), sekä geneettinen markkeri D13S319, kattavat 13q14:n patogeneettisen kriittisen alueen¹². DLEU1-geeniä pidetään todennäköisempänä CLL-leukemiaan liittyvänä ehdokastuumorisuppressorigeeninä 13q14-alueella¹³. Vastaavasti D13S319, joka paikantuu RB1-geenin ja D13S25:n välille ja DLEU1:n lokukseen, oli deleetionut 44 prosentissa CLL-tapauksista¹⁴. On myös esitetty, että telomeerisesti D13S319-alueelle, johon D13S25 sisältyy, paikantuva geeni voi olla merkittävä tapauksissa, joissa esiintyy hemisygoottisia deleetioita, ja että tämä geeni on putatiivinen tuumorisuppressorigeeni¹⁵.

Koettimen tekniset tiedot

13q14.2-q14.3, punainen
13qter, 13q34, vihreä



13q14.2-q14.3-koettimet, jotka on leimattu punaisella, kattavat D13S319- ja D13S25-markkerit. Erityisesti 13qter-subtelomeerikohtainen koetin (kloni 163C9), joka on leimattu vihreällä, mahdollistaa kromosomin 13 tunnistamisen ja toimii kontrollikoettimena.

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-fenyylindoli)).

Varoitukset ja varoimet

- Tarkoitettu *in vitro* -diagnostiikkakäyttöön. Vain ammattikäyttöön.
- Käytä käsineitä käsitellessäsi DNA-koettimia ja DAPI-vastaväriä.
- Anturiseokset sisältävät formamidiä, joka on teratogeeni: älä hengitä höyryjä sisään tai päästä ainetta kosketuksiin ihon kanssa. Käsiteltävä varoen: käytä käsineitä ja laboratoriottakkia.
- DAPI on potentiaalinen karsinogeeni. Käsiteltävä varoen: käytä käsineitä ja laboratoriottakkia.
- Hävitä kaikki vaaralliset materiaalit laitoksesi vaarallisten jätteiden hävittämistä koskevien ohjeiden mukaan.
- Käyttäjien on pystyttävä erottamaan toisistaan punainen, sininen ja vihreä väri.
- Mikäli hahmoteltua protokollaa ei noudateta ja sen mukaisia reagensseja ei käytetä, se saattaa vaikuttaa suorituskykyyn ja johtaa virheellisiin positiivisiin/negatiivisiin tuloksiin.
- Koetinta ei saa laimentaa tai sekoittaa muiden anturien kanssa.
- Mikäli 10 µl:n koetinta ei käytetä protokollan esidenaturaatiovaiheessa, se saattaa vaikuttaa suorituskykyyn ja johtaa virheellisiin positiivisiin/negatiivisiin tuloksiin.

Säilytys ja käsittely



Sarjaa on säilytettävä pakastimessa -25 °C ... -15 °C :n lämpötilassa sarjan etiketissä ilmoitettuun eräpäivään saakka Koetinta ja vastaväripulloja on säilytettävä pimeässä.

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

Laitteisto ja materiaalit Tarvitvat mutta pakkaukseen sisällyttämättömät

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 muovista, 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. Työpöytäseentrifugi
13. Mikroskooppiobjektilasi
14. 24 x24 mm:n peitelasit
15. Ajustin
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

Tarvitvat 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 öljyimmersionsuunnitelman 60/63x- tai 100x-apokromaattiohjelmia parhaaseen mahdolliseen visualisointiin. Tässä koetinsarjassa käytettävät loisteaineet virittyvät ja säteilevät seuraavilla aaltopituuksilla:

| Loisteaine | Viritysmaks [nm] | Emissiomaks [nm] |
|------------|------------------|------------------|
| Vihreä | 495 | 521 |
| Punainen | 596 | 615 |

Varmista, että mikroskooppiin on sovitettu asianmukaiset viritys- ja emissiosuodattimet, jotka kattavat yllä luetellut aallonpituudet. Käytä DAPI-vihreän spektrin/punaisen spektrin kolmoiskaistanpäästösuodatinta tai vihreän spektrin/punaisen spektrin 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 käyttöänsä suhteen.

Näytteen valmistelu

Sarja on suunniteltu käytettäväksi hematologisesti johdettuihin solususpensioihin, jotka on fiksatoitu Carnoy'n liuosfiksatiiviin (3:1 metanoli/etikkahappo), jotka on valmisteltu laboratorion tai laitoksen suuntaviivojen mukaisesti. Valmistele ilmakuivatut näytteet mikroskoopin objektiivilaseille sytogeneettisten vakio-toimenpiteiden mukaisesti. AGT-sytogenetikallaboratorion opaskirja sisältää suosituksia näytteen keräämisestä, viljelystä, poiminnasta ja objektiivilasiin valmistelusta¹⁶.

Liuksen valmistus

Etanoliuokset

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 laboratoriovalolle on aina rajallista).

Objektiivilasin valmistelu

1. Laita pisara solunäytettä mikroskooppiobjektilasille. Anna kuivua. (Vaihtoehtoisesti, jos käytetään sytogeneettistä kuivauskammioita: mikroskooppiobjektilaseille on asetettava pisara näytettä sytogeneettisen kuivauskammion avulla. Kammiota 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 lämmitä 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 solunäyteelle 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 °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 lämmitä 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 häipymistä 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.

Toimenpidesuosituksukset

1. Objektiivilasiin 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, vesikylypyjen ja inkubaattorien lämpötilojen mittaukseen kalibroituja lämpömittaria, 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

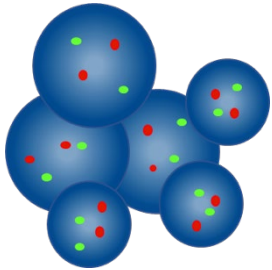
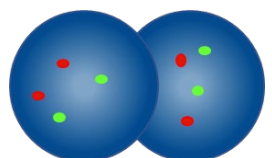
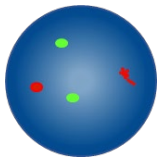
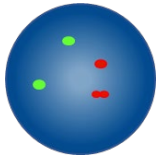
Objektiivilasin laadun arviointi

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 tumen rajoja ei voida erottaa, eivätkä ne ole eheitä

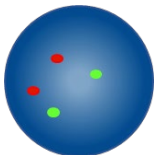
Analysointiohjeet

- Kahden analyytikon pitäisi analysoida ja tulkita jokainen näyte. Kaikki eriävyydet on annettava kolmannen analyytikon arvioitavaksi
- Jokaisella analyytikolla on oltava sopiva pätevyys tunnustettujen kansallisten standardien mukaan.
- Jokaisen analyytikon pitäisi saada riippumattomasti 100 tumaa kustakin näytteestä. Ensimmäisen analyytikon pitäisi käynnistää analyysi objektiivilasin vasemmalta puolelta ja toisen analyytikon oikealta puolelta
- Kunkin analyytikon on dokumentoitava tuloksiaan erillisillä arkeilla
- Analysoi vain eheitä tumia, ei päällekkäisiä tai yhteen kasautuneita tumia tai sellaisia tumia, jotka ovat sytoplasmajätteen peitossa tai joissa on runsaasti autofluoresenssia.
- Vältä alueita, joilla on liiallista sytoplasmajätettä tai epäspesifistä hybridisaatiota.
- Signaalin intensiteetti saattaa vaihdella yksittäisenkin tumen kohdalla. Käytä tällaisissa tapauksissa yksittäisiä 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 signaalien 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 signaalien rako on pienempi kuin kaksi signaalileveyttä |

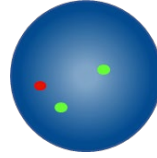
Odotettavissa olevat tulokset

Odotettavissa oleva normaali signaalikuvio

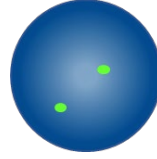


Tavallisessa solussa on odotettavissa kaksi punaista ja kaksi vihreää signaalia (2P, 2V).

Odotettavissa olevat epänormaalit signaalikuviot



Solussa, jossa on 13q14.3:n hemisyygootinen deleetio, odotettavissa oleva signaalikuvio on yksi punainen ja kaksi vihreää signaalia (1P, 2V).



Solussa, jossa on homotsygoottinen deleetio, odotettavissa oleva signaalikuvio on nolla punaista ja kaksi vihreää signaalia (0P, 2V).

13q-deleetiot KLL-tapauksissa on tunnistettu heterogeenisiksi; pieni deleetio 13q-alueella voi aiheuttaa heikon jäännösignaalien tässä koetinsarjassa.

Muut signaalikuviot ovat mahdollisia aneuploidisissa/epätasapainoisissa näytteissä.

Tunnettu ristireaktiivisuus

Vihreä 13qter-koetin voi näyttää ristihybridisaatiota kromosomin 19 sentromeerille ja muiden kromosomien p-haarolle.

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).

Soveltuvien osien tapahtumista 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 hybridisoidaan oikeaan lokukseseen eikä muihin sijainteihin. Analyttinen spesifisyys määritettiin analysoimalla yhteensä 200 kohdelokusta. Analyttinen spesifisyys laskettiin sellaisten FISH-signaalien määräksi, jotka hybridisoituivat oikeaan lokukseseen jaettuna hybridisoituneiden FISH-signaalien kokonaismäärällä.

Taulukko 1. 13q14.3 Deletion Probe -koettimen analyttinen spesifisyys

| Koetin | Kohdelokus | Oikeaan lokukseseen hybridisoituneiden signaalien määrä | Kaikkien hybridisoituneiden signaalien kokonaismäärä | Spesifisyys (%) |
|------------------|---------------|---|--|-----------------|
| Punainen 13q14.3 | 13q14.3 | 200 | 200 | 100 |
| Vihreä 13qter | 13qter, 13q34 | 200 | 200 | 100 |

Analyttinen herkkyys

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

Taulukko 2. 13q14.3 Deletion 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 |
|---|--|--------------|----------------------|
| 481 | 500 | 96,2 | 1,6 |

Normaalien raja-arvojen luokittelu

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

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

Taulukko 3. 13q14.3 Deletion Probe -koettimen normaalien raja-arvojen luokittelu

| Epänormaali signaalikuviot | Youden-indeksi | Normaali raja-arvo (%) |
|----------------------------|----------------|------------------------|
| 1P, 2V tai 0P, 2V | 0,95 | 7 |

Laboratorioiden on tarkistettava raja-arvot käyttäen omia tietojaan^{17, 18}.

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 signaalikuviot.

Uusittavuus ja tarkkuus laskettiin kunkin muuttujan replikaatioiden kokonaisvaltaisen keskimääräisen STDEV-arvon välisenä vakiopoikkeamana (STDEV).

Taulukko 4. 13q14.3 Deletion Probe -koettimen uusittavuus ja tarkkuus

| Muuttuja | Vakiopoikkeama (STDEV) |
|--------------------|------------------------|
| Tarkkuus | 0,72 |
| Näytteestä toiseen | 0,58 |
| Päivästä toiseen | 0,96 |
| Erästä toiseen | 1,40 |
| Kokonaispoikkeama | 1,03 |

Kliininen suorituskyky

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

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

Taulukko 5. 13q14.3 Deletion Probe -koettimen kliininen suorituskyky

| Muuttuja | Tulos |
|--|--------|
| Kliininen herkkyys (oikea positiivinen aste, TPR) | 96,3 % |
| Kliininen spesifisyys (oikea negatiivinen aste, TNR) | 99,1% |
| Väärä positiivinen aste (FPR) = 1 – spesifisyys | 0,9% |

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

- Bullrich F *et al.*, Cancer Res 2001;61:6640-8
- Zojer *et al.*, Blood 2000;95(6):1925-1930
- Sawyer, Cancer Genetics 2011;204:3-12
- Shaughnessy J *et al.*, Blood 2000;96:1505-11
- Fonseca *et al.*, Leukemia 2009;23:2210-2221
- Juliusson G *et al.*, N Eng J Med 1990;323:720-4
- Puiggros *et al.*, Biomed Res Int 2014;1-13
- Kasar *et al.*, Nature Communications 2015;6:1-12
- Hammarsund M *et al.*, FEBS Letters 2004;556:75-80
- Van Dyke DL *et al.*, Br J Haematology 2009;148:544-50
- Rossi *et al.*, Blood 2013;121(8):1403-1412
- Liu Y *et al.*, Oncogene 1997;15:2463-73
- Wolf S *et al.*, Hum Mol Genet 2001;10:1275-85
- Liu Y *et al.*, Blood 1995;86:1911-5
- Bullrich F *et al.*, Blood 1996;88(8):3109-15
- 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.
- Wiktors AE, Dyke DLV, Stupca PJ, Ketterling RP, Thorland EC, Shearer BM, Fink SR, Stockero KJ, Majorowicz JR, Dewald GW. *Preclinical validation of fluorescence in situ hybridization assays for clinical practice*. Genetics in Medicine. 2006;8(1):16-23.

Symboliopas

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

Patentit ja tavaramerkit

CytoCell on Cytozell Limited:n rekisteröity tavaramerkki.

Cytozell Limited

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