A Sysmex Group Company

CytoCell

Lietošanas instrukcija

ATS.: CE-LPH 011-S / CE-LPH 011

ATM Deletion Probe

CE IVD
2797

TIKAI PROFESIONĀLAM LIETOJUMAM

ogt.com/IFU

Papildinformācija un informācija citās valodās ir pieejama vietnē
ogt.com/IFU

Paredzētais lietošanas mērķis
Zonde CytoCell® ATM Deletion Probe ir kvalitatīvs, neautomatizēts luminiscentās *in situ* hibridizācijas (fluorescence in situ hybridisation — FISH) tests, kas paredzēts hromosomu delēciju noteikšanai 11. hromosomas reģionā 11q22.3 Karnuā šķīdumā (3:1 metanols/etiķskābe) fiksētās hematoloģiski iegūtās šūnu suspensijās no pacientiem, kuriem ir konstatēta hroniska limfoleikoze (CLL) vai pastāv aizdomas par tās esamību.

Lietošanas indikācijas
Šis ierīce ir paredzēta kā citu klīnisko un histopatoloģisko testu papildinājums atzītās diagnostikas un klīniskās aprūpes metodēs, kad informācija par *ATM* delēcijas statusu ir svarīga klīniskajai pārvaldībai.

Ierobežojumi
Šī ierīce ir paredzēta tādu genomisko zudumu noteikšanai, kuru lielums pārsniedz reģionu, ko nosedz sarkanais klons zonžu komplektā, kurā ietilpst *ATM* reģions. Izmantojot šo ierīci, var netikt noteikti genomiskie zudumi ārpus šī reģiona vai daļēji šī reģiona zudumi.
Šī ierīce nav paredzēta: izmantošanai autonoma diagnostikas līdzekļa statusā, papildu diagnostikas nolūkā, prenatālai testēšanai, konkrētu populāciju skrīningam, testēšanai ārpus laboratorijas un paštestēšanai.
Šī ierīce nav validēta paraugu tipiem, slimību tipiem vai mērķiem, kas neatbilst paredzētajai lietošanai.
Tā ir paredzēta kā citu diagnostisko laboratorijas testu palīglīdzeklis, un lēmumus par terapiju nedrīkst pieņemt, vadoties tikai pēc FISH testa rezultātiem.
Ziņošana par FISH testa rezultātiem un to interpretēšana ir jāveic atbilstoši kvalificētam personālam saskaņā ar profesionālajiem prakses standartiem, un ir jāņem vērā citu testu rezultāti, klīniskā un diagnostikas informācija.
Šī ierīce ir paredzēta tikai profesionālam lietojumam laboratorijā.
Neievērojot attiecīgo protokolu, var tikt ietekmēta veiktspēja un iegūti kļūdaini pozitīvi vai kļūdaini negatīvi rezultāti.

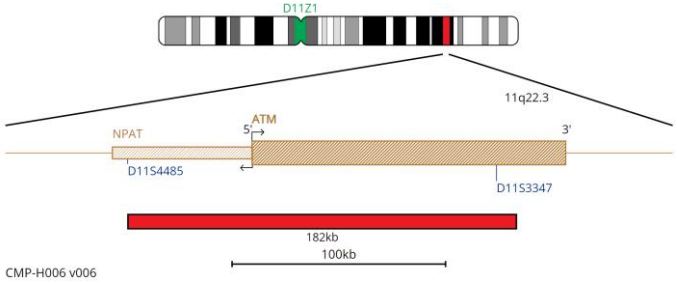
Testa principi
Luminiscentā *in situ* hibridizācija (fluorescence in situ hybridisation — FISH) ir metode, kas ļauj noteikt DNS sekvences metafāžu hromosomās vai interfāzes kodolos fiksētiem citoģenētiskiem paraugiem. Šajā metodē tiek izmantotas DNS zondes, kas hibridizējas ar veselām hromosomām vai atsevišķām unikālām sekvencēm un kalpo kā efektīvs G joslu citoģenētiskās analīzes palīglīdzeklis. Šo metodi tagad var lietot kā būtisku izmeklēšanas instrumentu prenatālajā, hematoloģiskajā un solīdu audzēju hromosomālajā analīzē. Mērķa DNS pēc fiksācijas un denaturēšanas ir pieejama hibridizācijai ar līdzīgi denaturētu, luminiscējoši marķētu DNS zondi, kurai ir papildu sekvence. Pēc hibridizācijas nesaistītā un nespecifiski saistītā DNS zonde tiek aizvākta un DNS tiek kontrastēta vizualizācijai. Pēc tam, izmantojot luminiscences mikroskopiju, hibridizēto zondi var vizualizēt mērķa materiālā.

Informācija par zondi
Proteīnkināzes *ATM* (*ATM serīna/treonīna kināze*) gēns, kas atrodas 11q22.3, bieži ir deletēts hroniskas B šūnu limfoleikozes (HLL) gadījumos. *ATM* ir svarīgs kontrolpunkta gēns, kas iesaistīts šūnu bojājumu pārvaldībā. Tā funkcijas ir DNS bojājumu šūnā līmeņa novērtēšana un mēģināšana tās izlabot, fosforilējot galvenos substrātus, kas iesaistīti reaģēšanas uz DNS bojājumiem ceļā[1].

B-HLL ir visbiežāk sastopamā leikēmija pieaugušiem pacientiem, tās norise var būt diapazonā no ļoti lēni progresējošas līdz ļoti strauji progresējošai. Tā kā leikēmijas šūnu mitotiskā aktivitāte *in vitro* ir zema, klonālās hromosomu anormalitātes tiek konstatētas 40–50%[2] gadījumu, izmantojot konvencionālās citoģenētiskās metodes, kurās tiek izmantoti B šūnu mitogēni, savukārt FISH analīzē hromosomālās aberācijas tiek identificētas aptuveni 80%[2] B-HLL gadījumu. *ATM* un/vai *TP53* delēciju skrīnings ir vitāli svarīgs, lai nodrošinātu informētu terapiju izvēli B-HLL pacientiem, jo *TP53* un *ATM* delēcijas liecina par nelabvēlīgāku šīs saslimšanas iznākumu[4]; līdz ar to FISH ir jaudīgs instruments, lai veiktu to pacientu diagnostiku un pārvaldību, kuri cieš no B-HLL[2,3,4].

ATM/TP53 mijiedarbības B-HLL ietvaros analīzes rezultāti norāda, ka *TP53* un *ATM* ir svarīga loma limfātiskās sistēmas vēža proliferācijā[1]. Ir konstatēts, ka *ATM* pastiprina *TP53* fosforilāciju, ja bojājumi ir tik lieli, ka ir nepieciešama šūnas apoptoze (ko mediē *TP53*). *ATM* delēcija noņem šo kontrolpunkta aktivitāti un līdz ar to *TP53* aktivizēšanu. Līdz ar to nenotiek bojāto šūnu labošanas vai apoptozes mēģinājumi par spīti *TP53* klātbūtnei. Ja *ATM* nepastāv, bojāto šūnu proliferācija var turpināties[5].

Zondes specifikācija
ATM, 11q22.3, sarkana
D11Z1, 11p11.11-q11, zaļa



ATM zonde ir 182 kb, marķēta sarkanā krāsā un nosedz *NPAT* gēna telomērisko galu un *ATM* gēna centromērisko galu līdz vietai tieši aiz D11S3347 marķiera. Zondes maisījumā ietilpst arī 11. centromēra (D11Z1) kontrolzonde, kas marķēta zaļā krāsā.

Nodrošinātie materiāli
Zonde: 50 µl flakonā (5 testi) vai 100 µl flakonā (10 testi)
Zondes tiek nodrošinātas iepriekš sajauktā veidā hibridizācijas šķīdumā (< 65% formamīds; < 20 mg dekstrāna sulfāts; < 10% 20x citrāta fizioloģiskais šķīdums (saline-sodium citrate, SSC)) un ir gatavas lietošanai.

Kontrasta krāsviela: 150 µl flakonā (15 testi)
Kontrasta krāsviela ir DAPI luminiscences uzturēšanas šķīdums ES (0,125 µg/ml DAPI (4,6-diamidino-2-fenilindols) šķīdumā uz glicerīna bāzes).

Brīdinājumi un piesardzības pasākumi
1. Lietošanai *in vitro* diagnostikā. Tikai profesionālam lietojumam laboratorijā.
2. Zondes maisījumos ietilpst formamīds, kas ir teratogēns, tādēļ nedrīkst pieļaut to izgarojumu ieelpošanu un nonākšanu saskarē ar ādu. Rīkojieties ar to piesardzīgi; valkājiet cimdus un laboratorijas virsvalku.
3. Rīkojieties ar DAPI piesardzīgi; valkājiet cimdus un laboratorijas virsvalku.
4. Nelietot, ja flakons(-i) ir bojāts(-i) vai flakona saturs jebkādā veidā ir bojāts.
5. Izpildiet vietējos utilizācijas noteikumus, kā arī drošības datu lapā sniegtos ieteikumus par drošu šī produkta utilizāciju. Tas attiecas arī uz bojātu testa komplekta saturu.
6. Utilizējiet visus izmantotos reaģentus un jebkādus citus piesārņotus vienreizlietojamos materiālus, ievērojot procedūras attiecībā uz infekcioziem vai potenciāli infekcioziem atkritumiem. Katra laboratorija ir atbildīga par rīcību ar cietajiem un šķidrajiem atkritumiem atbilstoši to veidam un bīstamības pakāpei, kā arī par to apstrādi un utilizāciju (līdz šim un turpmāk) saskaņā ar spēkā esošajiem noteikumiem.
7. Operatoriem jāspēj atšķirt sarkano, zilo un zaļo krāsu.
8. Neievērojot norādīto protokolu un norādījumus par reaģentiem, var tikt ietekmēta veiktspēja un iegūti kļūdaini pozitīvi/negatīvi rezultāti.
9. Zondi nedrīkst atšķaidīt vai veidot maisījumus ar citām zondēm.
10. Ja protokola priekšdenaturēšanas fāzes laikā netiek izmantoti 10 µl no zondes, var tikt ietekmēta veiktspēja un iegūti kļūdaini pozitīvi/negatīvi rezultāti.
11. Pirms lietošanas visi produkti ir jāapstiprina.
12. Iekšējās kontroles jāveic, testēšanas paraugos izmantojot neietekmētas šūnu populācijas.

Temperatūras definīcijas
- -20 °C/sasaldēts/saldētavā: No -25 °C līdz -15 °C
- 37 °C: +37 °C ± 1 °C
- 72 °C: +72 °C ± 1 °C
- 75 °C: +75 °C ± 1 °C
- Istabas temperatūra (Room Temperature — RT): No +15 °C līdz +25 °C

Uzglabāšana un apiešanās
-15°C / -25°C Komplekts ir jāglabā saldētavā temperatūrā no -25 ºC līdz -15 ºC līdz pat derīguma termiņa beigu datumam, kas norādīts uz komplekta etiķetes. Zondes un kontrasta krāsvielas flakoni ir jāuzglabā tumsā.



FISH zonde, DAPI Antifade ES kontrastviela un hibridizācijas šķīdums paliek stabili visos sasaldēšanas-atkausēšanas ciklos parastas lietošanas laikā (kur viens cikls ir flakona izņemšana no saldētavas un ievietošana tajā atpakaļ) — 5 cikli 50 µl (5 testi) FISH zondes flakonam, 10 cikli 100 µl (10 testi) FISH zondes flakonam un 15 cikli 150 µl (15 testi) kontrastvielas flakonam. Pēc iespējas jāsamazina gaismas iedarbība un jāizvairās no tās, kad vien iespējams. Uzglabājiet komponentus nodrošinātajā gaismas necaurlaidīgajā konteinerā. Komponenti, kas izmantoti un uzglabāti apstākļos, kas nav norādīti marķējumā, var nedarboties, kā paredzēts, un tie var negatīvi ietekmēt analīzes rezultātus. Ir jāveic viss iespējamais, lai ierobežotu gaismas un temperatūras svārstību ietekmi.

Aprīkojums un materiāli, kas ir nepieciešami, bet nav iekļauti komplektācijā
Ir jāizmanto kalibrēts aprīkojums.
1. Sildierīce (ar cietu sildvirsmu un precīzu temperatūras regulēšanu līdz pat 80 ºC)
2. Kalibrētas dažāda tilpuma mikropipetes un uzgaļi 1–200 µl diapazonā.
3. Ūdens vanna ar precīzu temperatūras regulēšanu 37 ºC un 72 ºC
4. Mikrocentrifūgas mēģenes (0,5 ml)
5. Luminiscences mikroskops (sk. sadaļu Uz luminiscences mikroskopu attiecināmie ieteikumi)
6. Fāžu kontrasta mikroskops
7. Tīri plastmasas, keramikas vai karstumizturīga stikla Koplina trauki
8. Pincete
9. Kalibrēta pH mērierīce (vai pH indikatora strēmeles, ar kurām var veikt mērījumus pH 6,5–8,0 diapazonā)
10. Konteiners ar mitru vidi
11. Luminiscencei atbilstoša mikroskopa objektīva iegremdēšanas eļļa
12. Galda centrifūga
13. Mikroskopa priekšmetstikliņi
14. 24x24 mm segstikliņi
15. Taimeris
16. 37 ºC inkubators
17. Gumijas līme
18. Virpuļmaisītājs
19. Mērcilindri
20. Magnētiskais maisītājs
21. Kalibrēts termometrs

Papildaprīkojums, kas nav ietverts komplektācijā
1. Citoģenētiskā žāvēšanas kamera

Nepieciešamie reaģenti, kas nav ietverti komplektācijā
1. 20x citrāta fizioloģiskais šķīdums (saline-sodium citrate — SSC)
2. 100% etanols
3. Tween-20
4. 1M nātrija hidroksīds (NaOH)
5. 1M sālsskābe (HCl)
6. Attīrīts ūdens

Uz luminiscences mikroskopu attiecināmie ieteikumi
Lai nodrošinātu optimālu vizualizāciju, izmantojiet 100 W dzīvsudraba spuldzi vai ekvivalentu gaismas avotu un eļļā iegremdējamus 60/63x vai 100x objektīvus. Šajā zonžu komplektā izmantotie fluorofori tiks ierosināti un izstaros tālāk norādītā garuma viļņos.

Fluorofors	$Ierosme_{max}$ [nm]	$Izstarošana_{max}$ [nm]
Zaļš	495	521
Sarkans	596	615

Nodrošiniet,lai mikroskops būtu aprīkots ar iepriekš norādītajiem viļņa garumiem atbilstošiem ierosmes un izstarošanas filtriem. Lai nodrošinātu optimālu zaļo un sarkano fluoroforu vienlaicīgu vizualizāciju, izmantojiet trīsjoslu DAPI/zaļā spektra/sarkanā spektra filtru vai divjoslu zaļā spektra/sarkanā spektra filtru.

Pirms lietošanas pārbaudiet luminiscences mikroskopu, lai pārliecinātos, vai tas darbojas pareizi. Izmantojiet iegremdēšanas eļļu, kas piemērota luminiscences mikroskopijai un nodrošina zemu autoluminiscences līmeni. Izvairieties no DAPI luminiscences uzturēšanas šķīduma sajaukšanās ar mikroskopa iegremdēšanas eļļu, jo pretējā gadījumā radīsies signāla traucējumi. Rīkojieties atbilstoši ražotāja ieteikumiem attiecībā uz lampas un filtru kalpošanas ilgumu.

Paraugu sagatavošana
Šis komplekts ir paredzēts izmantošanai ar hematoloģiski iegūtām šūnu suspensijām, kas fiksētas Karnuā (3:1 metanols/etiķskābe) šķīdumā un ir sagatavotas atbilstoši laboratorijā vai iestādē spēkā esošajām vadlīnijām. Sagatavojiet gaisā nožāvētus paraugus uz mikroskopa priekšmetstikliņiem atbilstoši standarta citoģenētiskajām procedūrām. AGT *citoģenētikas laboratorijas rokasgrāmatā* ir ietverti ieteikumi par paraugu ņemšanu, kulturēšanu, ievākšanu un priekšmetstikliņu sagatavošanu[6].

Šķīdumu sagatavošana
Etanola šķīdumi
Atšķaidiet 100% etanolu ar attīrītu ūdeni atbilstoši tālāk norādītajām proporcijām un rūpīgi samaisiet.
- 70% etanols — 7 daļas 100% etanola un 3 daļas attīrīta ūdens
- 85% etanols — 8,5 daļas 100% etanola un 1,5 daļas attīrīta ūdens

Glabājiet šķīdumus līdz pat 6 mēnešiem istabas temperatūrā hermētiski noslēdzamā konteinerā.

2xSSC šķīdums
Atšķaidiet 1 daļu 20xSSC šķīduma ar 9 daļām attīrīta ūdens un rūpīgi samaisiet. Pārbaudiet pH līmeni un nodrošiniet, lai tā pH būtu 7,0, pēc nepieciešamības izmantojot NaOH vai HCl. Uzglabājiet šķīdumu līdz pat 4 nedēļu ilgumā istabas temperatūrā hermētiski noslēdzamā konteinerā.

0,4xSSC šķīdums
Atšķaidiet 1 daļu 20xSSC šķīduma ar 49 daļām attīrīta ūdens un rūpīgi samaisiet. Pārbaudiet pH līmeni un nodrošiniet, lai tā pH būtu 7,0, pēc nepieciešamības izmantojot NaOH vai HCl. Uzglabājiet šķīdumu līdz pat 4 nedēļu ilgumā istabas temperatūrā hermētiski noslēdzamā konteinerā.

2xSSC, 0,05% Tween-20 šķīdums
Atšķaidiet 1 daļu 20xSSC šķīduma ar 9 daļām attīrīta ūdens. Pievienojiet 5 µl Tween-20 uz 10 ml un rūpīgi samaisiet. Pārbaudiet pH līmeni un nodrošiniet, lai tā pH būtu 7,0, pēc nepieciešamības izmantojot NaOH vai HCl. Uzglabājiet šķīdumu līdz pat 4 nedēļu ilgumā istabas temperatūrā hermētiski noslēdzamā konteinerā.

Luminiscentās in situ hibridizācijas protokols (FISH)
(Piezīme. Nodrošiniet, lai zonde un kontrasta krāsviela pēc iespējas mazāk tiktu pakļauta laboratorijas apgaismojuma iedarbībai.)

Priekšmetstikliņa sagatavošana
1. Novietojiet šūnu paraugu uz mikroskopa priekšmetstikliņa, kas izgatavots no stikla. Ļaujiet nožūt. (**Pēc izvēles, ja izmanto citoģenētisko žāvēšanas kameru**: Lai nodrošinātu optimālu šūnu parauga sagatavošanu, kamera jādarbina, iestatot aptuveni 25 °C temperatūru un 50% mitruma. Ja citoģenētiskā žāvēšanas kamera nav pieejama, kā alternatīvu var izmantot gāzu nosūcēju).
2. Iegremdējiet priekšmetstikliņu 2xSSC šķīdumā istabas temperatūrā uz 2 minūtēm, neveicot maisīšanu.
3. Veiciet dehidrēšanas etanolā sērijas (70%, 85% un 100%), katru 2 minūtes istabas temperatūrā.
4. Ļaujiet nožūt.

Priekšdenaturēšana
5. Izņemiet zondi no saldētavas un ļaujiet tai sasilt līdz istabas temperatūrai. Pirms mēģeņu lietošanas brīdi tās centrifugējiet.
6. Izmantojot pipeti, pārliecinieties, vai zondes šķīdums ir viendabīgi samaisīts.
7. Paņemiet 10 µl zondes šķīduma katram testam un pārnesiet to uz mikrocentrifūgas mēģeni. Atlikušo zondes šķīdumu nekavējoties ievietojiet atpakaļ saldētavā.
8. Novietojiet zondi un parauga priekšmetstikliņu uz sildierīces un veiciet priekšsildīšanu 37 ºC (+/- 1 ºC) temperatūrā 5 minūtes.
9. Uzlieciet 10 µl zondes maisījuma uz šūnu parauga un rūpīgi uzlieciet segstikliņu. Hermetizējiet ar gumijas līmi un ļaujiet līmei pilnībā nožūt.

Denaturēšana
10. Veiciet parauga un zondes vienlaicīgu denaturēšanu, sildot priekšmetstikliņu uz sildierīces 75 ºC (+/- 1 ºC) temperatūrā 2 minūtes.

Hibridizācija
11. Ievietojiet priekšmetstikliņu gaismu necaurlaidīgā konteinerā ar mitru vidi un atstājiet to 37 ºC (+/- 1 ºC) temperatūrā līdz nākamajai dienai.

Skalošana pēc hibridizācijas
12. Izņemiet DAPI no saldētavas un ļaujiet tam sasilt līdz istabas temperatūrai.
13. Noņemiet segstikliņu un rūpīgi notīriet visas līmes atliekas.
14. Iegremdējiet priekšmetstikliņu 0,4xSSC (pH 7,0) 72 ºC (+/- 1 ºC) temperatūrā uz 2 minūtēm nemaisot.
15. Noteciniet šķidrumu no priekšmetstikliņa un iegremdējiet to 2xSSC, 0,05% Tween-20 šķīdumā istabas temperatūrā (pH 7,0) uz 30 sekundēm nemaisot.
16. Noteciniet šķidrumu no priekšmetstikliņa un katram paraugam pievienojiet 10 µl DAPI luminiscences uzturēšanas līdzekli.
17. Uzlieciet segstikliņu, likvidējiet burbuļus un ļaujiet krāsai tumsā attīstīties 10 minūtes.
18. Skatiet luminiscences mikroskopā (sk. **Uz luminiscences mikroskopu attiecināmie ieteikumi**).

Ieteikumi attiecībā uz procedūru
1. Priekšmetstikliņu karsēšana vai novecošana var samazināt signāla luminiscenci.
2. Tādu reaģentu izmantošana, kas nav uzņēmuma Cytocell Ltd. nodrošinātie vai ieteiktie reaģenti, var nelabvēlīgi ietekmēt hibridizācijas apstākļus.
3. Šķīdumu, ūdens vannu un inkubatoru temperatūras mērīšanai jāizmanto kalibrēts termometrs, jo norādītās temperatūras ievērošana ir kritiski svarīga produkta optimālas veiktspējas nodrošināšanai.
4. Skalošanas šķīdumu koncentrācijas, pH vērtības un temperatūras vērtības ir svarīgas, jo pārāk lielas pielaides gadījumā iespējama nespecifiska sasaiste, savukārt pārāk mazas pielaides gadījumā iespējama signāla nepietiekamība.
5. Nepilnīga denaturēšana var izraisīt signāla nepietiekamību, savukārt pārmērīga denaturēšana arī var izraisīt nespecifisku sasaisti.
6. Pārmērīgas hibridizācijas dēļ iespējami papildu vai neparedzēti signāli.
7. Pirms testa izmantošanas diagnostikas nolūkiem lietotājiem ir jāveic protokola optimizācija atbilstoši saviem paraugiem.
8. Ja apstākļi nav pietiekami optimāli, iespējama nespecifiska sasaiste, kas var tikt nepareizi interpretēta kā zondes signāls.

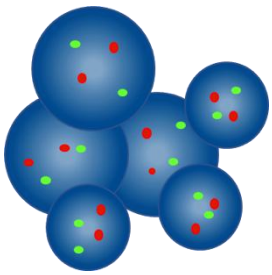
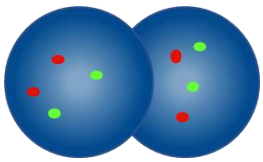
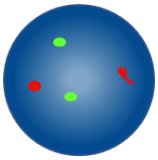
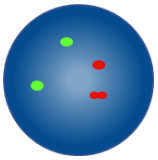
Rezultātu interpretēšana

Sagatavotā priekšmetstikliņa ar paraugu kvalitātes novērtēšana
Paraugu nedrīkst analizēt tālāk norādītajos gadījumos.

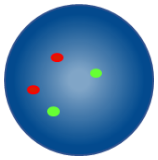
- Signāli ir pārāk vāji analizēšanai atsevišķos filtros — lai veiktu analīzi, signāliem jābūt spilgtiem, labi izšķiramiem un viegli novērtējamiem.
- Ir daudz salipušu/pārklājošos šūnu, kas traucē veikt analīzi.
- >50% šūnu nav hibridizētas.
- Starp šūnām atrodas pārāk daudz luminiscējošo daļiņu un/vai luminiscējošs aizmiglojums, kas rada signāla traucējumus, — optimālā priekšmetstikliņā ar paraugu fonam jābūt tumšam vai melnam un tīram.
- Šūnu kodolu robežas nav izšķiramas un nav veselas.

Uz analīzi attiecināmās vadlīnijas

- Katra parauga analīzi un interpretēšanu ir jāveic diviem laboratorijas speciālistiem. Visas neatbilstības ir jānovērš, novērtēšanu veicot trešajam laboratorijas speciālistam.
- Katram laboratorijas speciālistam jābūt attiecīgi kvalificētam atbilstoši spēkā esošajiem valsts līmeņa standartiem.
- Katram laboratorijas speciālistam neatkarīgi jāveic novērtēšana 100 kodoliem no katra parauga. Pirmajam laboratorijas speciālistam jāsāk analīze no priekšmetstikliņa kreisās puses, savukārt otram laboratorijas speciālistam — no priekšmetstikliņa labās puses.
- Katram laboratorijas speciālistam jādokumentē savi rezultāti atsevišķās lapās.
- Ir jāanalizē tikai veseli kodoli, nevis pārklājošies kodoli, sablīvējušies kodoli vai kodoli, kurus sedz citoplazmatiskās atliekas vai augsta līmeņa autoluminiscence.
- Jāizvairās no zonām ar pārmērīgu citoplazmatisko atlieku apjomu vai nespecifisku hibridizāciju.
- Signāla intensitāte var būt mainīga, pat vienā kodolā. Šādos gadījumos izmantojiet atsevišķus filtrus un/vai pielāgojiet fokālo plakni.
- Ja apstākļi nav pietiekami optimāli, signāli var šķist izkliedēti. Ja divi vienādas krāsas signāli savstarpēji saskaras vai attālums starp tiem nepārsniedz divus signāla platumus, vai arī abus signālus savieno tikko redzams pavediens, šie signāli ir uzskatāmi par vienu signālu.
- Analizējot divkrāsu sadalīšanās zondes, ja attālums starp sarkano un zaļo signālu nepārsniedz 2 signāla platumus, signāls ir uzskatāms par nepārkārtotu/saplūdušu signālu.
- Analizējot trīskrāsu sadalīšanās zondes, ja attālums starp 3 signāliem (sarkanu, zaļu, zilu) nepārsniedz 2 signālu platumu, signāls ir uzskatāms par nepārkārtotu/saplūdušu signālu.
- Ja pastāv šaubas, vai šūna ir analizējama, neveiciet tās analīzi.

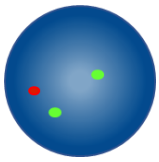
Uz analīzi attiecināmās vadlīnijas	
	Neskaitīt — kodoli atrodas pārāk tuvu viens otram, lai varētu noteikt to robežas
	Neskaitīt pārklājošos kodolus — nav redzamas visas abu kodolu zonas
	Skaitīt kā divus sarkanus signālus un divus zaļus signālus — viens no abiem sarkanajiem signāliem ir difūzs
	Skaitīt kā divus sarkanus signālus un divus zaļus signālus — atstarpe vienā sarkanajā signālā ir mazāka nekā divi signāla platumi

Paredzamie rezultāti
Paredzamais normālu signālu modelis



Normālā šūnā ir paredzami divi sarkani un divi zaļi signāli (2S2Z).

Paredzamais anormālo signālu modelis



Šūnā ar ATM delēciju ir paredzams viens sarkans un divi zaļi signāli (1S2Z).

Citi signālu modeļi ir iespējami aneiploīdos/nelīdzsvarotos paraugos.

Zināmie būtiskie traucējumi/traucējošās vielas
Nav zināmu būtisku traucējumu/traucējošu vielu.

Zināmā krusteniskā reakcija
Zaļā D11Z1 zonde var uzrādīt krusteniskās hibridizācijas signālus 1c, Xc un 17c.

Ziņošana par nopietniem negadījumiem
Pacientam/lietotājam/trešajai personai Eiropas Savienībā un valstīs ar identisku tiesisko regulējumu (Regula (ES) 2017/746 par *In vitro* diagnostikas medicīniskām ierīcēm); ja šīs ierīces lietošanas laikā vai tās lietošanas rezultātā ir noticis nopietns negadījums, lūdzu, ziņojiet par to ražotājam un valsts atbildīgajai iestādei.
Attiecībā uz nopietniem negadījumiem citās valstīs, lūdzu, ziņojiet par to ražotājam un, ja paredzēts, savas valsts atbildīgajai iestādei.
Ražotāja uzraudzības kontaktinformācija: vigilance@ogt.com
ES valstu kompetentajām iestādēm kontaktpersonu medicīnas ierīču kontroles jautājumos saraksts ir atrodams šajā vietnē:
https://health.ec.europa.eu/medical-devices-sector/new-regulations/contacts_en

Specifiskās veiktspējas raksturlielumi
Analītiskais specifiskums
Analītiskais specifiskums tiek definēts kā to signālu procentuālā vērtība, kas hibridizējas uz pareizo lokusu un nekādu citu vietu. Katrā no divdesmit metafāzes šūnām no pieciem paraugiem tika analizēti četri hromosomu lokusi, dodot 400 datu punktus. Katras hibridizētās zondes atrašanās vieta ir kartēta, un ir ierakstīts metafāzes hromosomu luminiscentās in situ hibridizācijas (Fluorescence in situ hybridisation — FISH) signālu skaits, kas hibridizējās uz pareizo lokusu.

Katras komplekta zondes analītiskais specifiskums tika aprēķināts kā metafāzes hromosomu FISH signālu skaits, kas hibridizējās uz pareizo lokusu, dalīts ar kopējo metafāzes hromosomu FISH signālu kopējo skaitu, šis rezultāts tika sareizināts ar 100, izteikts kā procentuālā vērtība un dots ar 95% ticamības intervālu.

1. tabula Zondes ATM Deletion Probe analītiskais specifiskums

Mērķis	Hibridizēto metafāzes hromosomu skaits	Pareizi hibridizēto lokusu skaits	Analītiskais specifiskums	95% ticamības intervāls
11q22.3	200	200	100%	98,12%–100%
11p11.11-11q11	200	200	100%	98,12%–100%

Analītiskais jutīgums
Analītiskais jutīgums tiek izteikts kā novērtējamu interfāzes šūnu ar paredzamu normālo signālu modeli procentuālā vērtība. Katrai no 25 fiksētām kaula smadzeņu šūnu suspensijām un katrai no 25 fiksētām perifēro asiņu šūnu suspensijām tika analizētas vismaz 100 starpfāzes šūnas, rezultātā sniedzot vismaz 2500 kodolus katram parauga tipam. Jutīguma dati tika analizēti, pamatojoties uz šūnu procentuālo vērtību, kas parāda parastu paredzamo signālu modeli un tiek izteikti kā procentuālā vērtība ar 95% ticamības intervālu.

2. tabula Zondes ATM Deletion Probe analītiskais jutīgums

Parauga tips	Jutīguma kritēriji	Jutīguma rezultāts
Kaula smadzenes	>95%	97,48% (96,58%–98,38%)
Perifērās asinis	>95%	96,88% (95,60%–98,16%)

Normalitātes robežvērtību raksturojums
Normalitātes robežvērtība tiek definēta kā to šūnu procentuālā vērtība, kas uzrāda aplami pozitīvu signālu modeli, kurā indivīds tiktu uzskatīts par normalitāti un

neatbilstošs klīniskajai diagnozei. Katrai no 25 fiksētām kaula smadzeņu šūnu suspensijām un katrai no 25 fiksētām perifēro asiņu šūnu suspensijām tika analizētas vismaz 100 starpfāzes šūnas, rezultātā sniedzot vismaz 2500 kodolus katram parauga tipam.

Robežvērtība tika noteikta, programmā MS Excel izmantojot β inversijas (BETAINV) funkciju. Tā tika aprēķināta kā starpfāžu šūnu procentuālā vērtība, kas uzrāda aplami pozitīvu signālu modeli, izmantojot binomiālās izplatības vienpusējās 95% ticamības intervāla augšējo robežu normalitātes pacienta paraugā.

3. tabula Zondes ATM Deletion Probe normalitātes robežvērtību raksturojums

Parauga tips	Robežvērtības rezultāts
Kaula smadzenes	9,77%
Perifērās asinis	10,58%

Laboratorijām jāveic robežvērtību verifikācija, izmantojot savus datus.[7,8]

Precizitāte
Šī izstrādājuma precizitāte ir izmērīta dienas precizitātes (no parauga uz paraugu), starpdienu precizitātes (no dienas uz dienu) un vienas vietas starppartiju precizitātes (no partijas uz partiju) izteiksmē.

Lai novērtētu šā produkta precizitāti, tika izmantoti divi paraugi: negatīvs kaulu smadzeņu paraugs un izveidots nedaudz pozitīvs kaulu smadzeņu paraugs, kas radīts, lai novērtētu produktu noteiktajā robežvērtību diapazonā.

Lai noteiktu starpdienu un dienas precizitāti, paraugi tika izvērtēti 10 nesecīgu dienu laikā, un, lai noteiktu precizitāti no partijas uz partiju, trīs produkta partijas tika novērtētas ar viena un tā paša parauga trīs atkārtojumiem. Rezultāti tika pasniegti kā vispārēja konverģence ar prognozētu negatīvo klasi (negatīviem paraugiem).

4. tabula Zondes ATM Deletion Probe reproducējamība un precizitāte

Mainīgais	Parauga tips	Konverģence
Dienas (paraugu līmenī) un starpdienu (dienas līmenī) reproducējamība	Kaula smadzenes, negatīvs	100%
	Kaula smadzenes, nedaudz pozitīvs	100%
Starppartiju reproducējamība	Kaula smadzenes, negatīvs	100%
	Kaula smadzenes, nedaudz pozitīvs	100%

Klīniskā veiktspēja
Lai nodrošinātu to, ka produkts konstatē paredzētos pārkārtojumus, klīniskā veiktspēja tika noteikta trīs pētījumos produktam paredzētās populācijas reprezentējošiem paraugiem: 3:1 metanolā/etiķskābē fiksēts materiāls no hematoloģiski iegūtiem paraugiem. Pētījumā izmantoto paraugu apjoms bija 27 paraugi, ar 13 pozitīvu paraugu un 14 negatīvu paraugu mērķa populāciju, kas iegūti no 11 negatīviem kaulu smadzeņu paraugiem, 3 negatīviem perifēro asiņu paraugiem, 10 pozitīviem kaulu smadzeņu paraugiem un 3 pozitīviem perifēro asiņu paraugiem. Zonde pareizi noteica paraugu statusu visās instancēs.

Šo testu rezultāti tika analizēti, lai nodrošinātu klīnisku jutīgumu, klīnisku specifiskumu un kļūdaini pozitīvo rezultātu rādītāja (false positive rate — FPR) vērtības pozitīviem signāliem, izmantojot viendimensijas pieeju.

5. tabula Zondes ATM Deletion Probe klīniskā veiktspēja

Mainīgais	Rezultāts
Klīniskais jutīgums (pareizi pozitīvo rezultātu rādītājs (true positive rate — TPR))	100,00%
Klīniskais specifiskums (pareizi negatīvo rezultātu rādītājs (true negative rate — TPR))	100,00%
Kļūdaini pozitīvo rezultātu rādītājs (false positive rate — FPR) = 1 – specifiskums	0,00%

Drošuma un veiktspējas kopsavilkums (Summary of Safety and Performance — SSP)
SSP jābūt publiski pieejamam, izmantojot Eiropas medicīnisko ierīču datubāzi (Eudamed), kur tas ir saistīts ar pamata UDI-DI.
Eudamed URL: https://ec.europa.eu/tools/eudamed
Pamata UDI-DI: 50558449LPH011J4

Ja Eudamed nedarbojas pilnībā, SSP ir publiski pieejams pēc pieprasījuma pa e-pastu SSP@ogt.com.

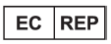
Papildinformācija
Lai saņemtu papildinformāciju par produktu, sazinieties ar CytoCell tehniskā atbalsta nodaļu.
Tālr.: +44 (0)1223 294048
E-pasts: techsupport@cytocell.com
Tīmeklī: www.ogt.com

Atsauces

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.

Simbolu glosārijs

EN ISO 15223-1:2021 — "Medicīniskās ierīces — simboli, kas jāizmanto kopā ar ražotāja nodrošināto informāciju — 1. daļa. Vispārīgas prasības
(© International Organization for Standardization)

Simbols	Nosaukums	Atsauces numurs(-i)
	**lv:** Ražotājs	5.1.1
	**lv:** Pilnvarots pārstāvis Eiropas Kopienā/Eiropas Savienībā	5.1.2
	**lv:** Derīguma termiņš	5.1.4
	**lv**: Partijas kods	5.1.5
	**lv:** Kataloga numurs	5.1.6
	**lv:** Sargāt no saules gaismas	5.3.2
	**lv:** Temperatūras ierobežojums	5.3.7
	**lv:** Skatīt lietošanas instrukciju	5.4.3
 ogt.com/IFU	**lv:** Skatīt elektronisko lietošanas instrukciju	5.4.3
	**lv:** Uzmanību!	5.4.4
	**lv:** *In vitro* diagnostikas medicīniskā ierīce	5.5.1
	**lv:** Saturs ir pietiekams <n> testiem	5.5.5
	**lv:** Unikālais ierīces identifikators	5.7.10

EDMA simboli IVD reaģentiem un komponentiem, 2009. gada oktobra redakcija

Simbols	Nosaukums	Atsauces numurs(-i)
	**lv:** Sastāvs (vai satur)	N/p

Patenti un preču zīmes
CytoCell ir reģistrēta Cytocell Limited preču zīme.

Cytocell Limited
Oxford Gene Technology
418 Cambridge Science Park
Milton Road
CAMBRIDGE
CB4 0PZ
APVIENOTĀ KARALISTE

Tālr.: +44 (0)1223 294048
E-pasts: probes@cytocell.com
Tīmeklī: www.ogt.com

EC REP

Sysmex Europe SE
Deelböge 19 D
22297 Hamburg
VĀCIJA

Tīmeklī: www.sysmex-europe.com

Lietošanas instrukcijas variantu vēsture
V001 2026-10-29: Jauna lietošanas instrukcija atbilstoši Regulai (ES) 2017/746