



A Sysmex Group Company



Lietošanas instrukcijas

REF: CE-LPH 025-S / CE-LPH 025

Del(7q) Deletion Probe



TIKAI PROFESIONĀLAM LIETOJUMAM



Papildinformācija un informācija citās valodās ir pieejama vietnē

ogt.com/IFU

Paredzētais lietošanas mērķis

Zonde CytoCell® Del(7q) Deletion Probe ir kvalitatīvs, neautomatizēts luminiscentās in situ hibridizācijas (fluorescence *in situ* hybridisation, FISH) tests, kas paredzēts hromosomālo delēcijas noteikšanai 7. hromosomas reģionos 7q22 un 7q31.2 Karnuā šķīdumā (3:1 metanols/etiķskābe) fiksētās hematoloģiski iegūtās šūnu suspensijās no pacientiem, kuriem ir konstatēta akūta mieloīda leikēmija (AML) vai mielodisplastiskais sindroms (MDS) vai arī pastāv aizdomas par tā esamību.

Lietošanas indikācijas

Šī ierīce ir paredzēta kā citu klīnisko un histopatoloģisko testu papildinājums atzītās diagnostikas un klīniskās aprūpes metodēs, kad informācija par 7q22 vai 7q31.2 delēcijas statusu ir svarīga klīniskajai pārvaldībai.

Ierobežojumi

Šī ierīce ir paredzēta tādu genomisko zudumu noteikšanai, kuru lielums pārsniedz reģionus, ko nosedz sarkanie un zaļie kloni šajā zonžu komplektā, kuros ietilpst reģioni 7q22 un 7q31.2. Izmantojot šo ierīci, var netikt noteikti genomiskie zudumi ārpus šī reģiona vai daļēji šī reģiona zudumi.

Šī ierīce nav paredzēta izmantošanai autonomas diagnostikas līdzekļa statusā, papildu diagnostikas nolūkā, prenatalai testēšanai, konkrētu populāciju skrīningam, testēšanai ārpus laboratorijas un paštestēšanai.

Šī ierīce nav validēta paraugu tiem, slimību tiem vai mērķiem, kas neatbilst paredzētajam lietošanas mērķim.

Tā ir paredzēta kā citu diagnostisko laboratorijas testu palīg līdzeklis, un lēmumus par terapiju nedrīkst pieņemt, vadoties tikai pēc FISH testa rezultātiem.

Ziņošana par FISH testa rezultātiem un to interpretēšanu 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. Protokola neievērošana var ietekmēt veikspēju, un var tikt iegūti kļūdaini pozitīvi vai kļūdaini negatīvi rezultāti.

Testa principi

Fluorescences *in situ* hibridizācija (fluorescence *in situ* hybridisation, FISH) ir metode, kas ļauj noteikt DNS sekvenču metafāzu hromosomās vai starpfāzes kodolos fiksētiem citogēnētiskiem paraugiem. Šajā metodē tiek izmantotas DNS zondes, kas hibridizējas ar veselām hromosomām vai atsevišķām unikālām sekvencēm un kalpo kā efektīvs G joslu citogēnētiskās analīzes palīg līdzeklis. Šo metodi tagad var lietot kā būtisku izmeklēšanas instrumentu prenatalajā, hematoloģiskajā un solidu audzēju hromosomālajā analīzē. Mērķa DNS pēc fiksācijas un denaturēšanas ir pieejama hibridizācijai ar līdzīgi denaturētu, DNS zondi ar fluorescentu marķējumu, kurai ir papildu sekvenču. Pēc hibridizācijas nesaistītā un nespecifiski saistītā DNS zonde tiek izvilka un DNS tiek kontrastēta vizualizācijai. Pēc tam, izmantojot fluorescences mikroskopiju, hibridizēto zondi var vizualizēt mērķa materiālā.

Informācija par zondi

7. hromosomas monosomija un 7. hromosomas garā pleca delēcijas ir atzītas hromosomālās aberācijas ar tendenci atkārtoties un ir bieži konstatējamas mieloīdo traucējumu gadījumos, tostarp mielodisplastiskā sindroma (MDS) un akūtās

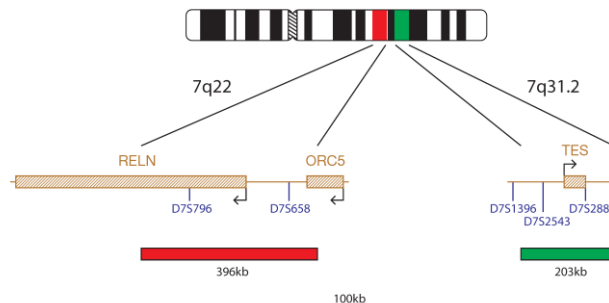
mieloīdās leikēmijas (AML) gadījumā¹. Šīs novirzes var rasties arī MDS un AML gadījumos pacientiem ar konstitucionāliem traucējumiem (piemēram, Fankoni anēmijas, Kostmana sindroma, 1. tipa neirofibromatozes un pārmantotas 7. hromosomas monosomijas)². 7. hromosomas monosomijas vai del(7q) kā kariotipisku izmaiņu klātbūtne ir saistīta ar nelabvēlīgāku iznākumu ļaundabīgu mieloīdo jaunveidojumu gadījumā^{1,3}. 7. hromosomas delēcijas parasti ir lielas, ar heterogenitāti pārtraukumpunktos mieloīdo saslimšanu gadījumā, kas apgrūtina parasti delēcijai pakļauto reģionu (common deleted region, CDR) kartēšanu.

Zondes specifikācija

7q22, sarkana

7q31.2, zaļa

CMP-H018 v006.00



Zonde 7q22, marķēta sarkanā krāsā, nosedz 396kb reģionu, tostarp arī *RELN* gēna telomērisko galu, un plešas aiz marķiera D7S658. Zonde 7q31.2, marķēta zaļā krāsā, nosedz reģionu 203kb, tostarp arī *TES* gēnu.

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) iekļaušanas vidē uz glicerīna bāzes).

Brīdinājumi un piesardzības pasākumi

- Lietošanai *in vitro* diagnostikā. Tikai profesionālam lietojumam laboratorijā.
- Zondes maisījumos ietilpst formamīds, kas ir teratogēns, tādēļ nedrīkst pieļaut to izgarojumu ieelpošanu un nonākšanu saskarē ar ādu. Lietojot ievērojiet piesardzību; valkājiet cimdus un laboratorijas virsvalku.
- Rīkojieties ar DAPI piesardzīgi; valkājiet cimdus un laboratorijas virsvalku.
- Nelietot, ja flakons(-i) ir bojāts(-i) vai flakona saturs jebkāda veidā ir bojāts.
- Izpildiet vietējos utilizācijas noteikumus, kā arī drošības datu lapā sniegtos ieteikumus par drošu šī produkta utilizāciju. Tas attiecas arī uz bojātu testa komplekta saturu.
- Utilizējiet visus izmantotos reaģentus un jebkādu citu piesārņotus vienreizlietojamus materiālus, ievērojot procedūras attiecībā uz infekcioziem vai potenciāli infekcioziem atkritumiem. Katra laboratorija ir atbildīga par rīcību ar citajiem un šķidrājiem atkritumiem atbilstoši to veidam un bīstamības pakāpei, kā arī par to apstrādi un utilizāciju (līdz šim un turpmāk) saskaņā ar spēkā esošajiem noteikumiem.
- Operatoriem jāspēj atšķirt sarkano, zilo un zaļo krāsu.
- Neievērojot norādīto protokolu un norādījumus par reaģentiem, var tikt ietekmēta veikspēja un iegūti kļūdaini pozitīvi/negatīvi rezultāti.
- Zondi nedrīkst atšķaidīt vai veidot maisījumus ar citām zondēm.
- Ja protokola iepriekšējās denaturēšanas fāzes laikā neizmanto 10 µl no zondes, var tikt ietekmēta veikspēja un iegūti kļūdaini pozitīvi/negatīvi rezultāti.
- Pirms lietošanas visi produkti ir jāapstiprina.
- 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 lietošana

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



FISH zonde, DAPI Antifade ES kontrastviela un hibridizācijas šķīdums paliek stabili visos sasaldēšanas-atkausēšanas ciklos parastās 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

flakonom. Pēc iespējas jāsamazina gaismas iedarbība un jāizvairās no tās, kad vien iespējams. Uzglabājiet komponentus nodrošinātājā gaismas necaurļaidīgajā konteinerā. Komponenti, kas izmantoti un uzglabāti apstākļos, kas nav norādīti marķējumā, var nedarboties, kā paredzēts, un tie var negatīvi ietekmēt analīzes rezultātus. Ir jādara viss iespējamais, lai ierobežotu gaismas un temperatūras svārstību ietekmi.

Aprikojums un materiāli, kas ir nepieciešami, bet nav iekļauti komplektācijā
Ir jāizmanto kalibrēts aprikojums:

1. Sildierīce (ar cietu sildvirsmu un precīzu temperatūras regulēšanu līdz pat 80 °C)
2. Kalibrētas mainīga tilpuma mikropipetes un uzgaļi 1–200 µl diapazonā.
3. Ūdens vannā ar precīzu temperatūras regulēšanu 37 °C un 72 °C
4. Mikrocentrifūgas mēģenes (0,5 ml)
5. Fluorescences mikroskops (sk. sadaļu „Uz fluorescences 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. Fluorescencei atbilstoša mikroskopa objektīva iegremdēšanas eļļa
12. Galdā centrifūga
13. Mikroskopa priekšmetstikliņi
14. 24x24 mm segstikliņi
15. Taimeris
16. 37 °C 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 sālskābe (HCl)
6. Attīrīts ūdens

Uz fluorescences 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 zonā komplektā izmantotie fluorofori tiks ierosināti un izstaros tālāk norādītā garuma viļņos.

Fluorofors	Ierosme _{max} [nm]	Izstarošana _{max} [nm]
Zaļš	495	521
Sarkans	596	615

Pārliecinieties, vai mikroskops ir aprīkots ar iepriekš norādītajiem viļņa garumiem atbilstošiem ierosmes un izstarošanas filtriem. Lai nodrošinātu optimālu zaļo un sarkano fluoroforu vienlaicīgu vizualizāciju, izmantojiet trisjoslu DAPI/zaļā spektra/sarkana spektra filtru vai divjoslu zaļā spektra/sarkana spektra filtru.

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

Paraugu sagatavošana

Šo komplektu ir paredzēts izmantot ar hematoloģiski iegūtām šūnu suspensijām, kas fiksētas Karnuā šķīduma (metanols/etiķskābe 3:1) fiksatorā un sagatavotas atbilstoši laboratorijā vai iestādē spēkā esošajām vadlīnijām. Sagatavojiet gaisā nožāvētus paraugus uz mikroskopa priekšmetstikliņiem atbilstoši standarta citoģenētiskajām procedūrām. AGT *citoģenētikas laboratorijas rokasgrāmātā* ir ietverti ieteikumi par paraugu paņemšanu, kultivēšanu, ievākšanu un priekšmetstikliņu sagatavošanu⁴.

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.

Fluorescentās in situ hibridizācijas (FISH) protokols

(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.

Iepriekšēja denaturēšana

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

Denaturēšana

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

Hibridizācija

11. Ievietojiet priekšmetstikliņu gaismu necaurļaidīgā konteinerā ar mitru vidi un atstājiet to 37 °C (+/- 1 °C) 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 °C (+/- 1 °C) 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 fluorescences uzturēšanas līdzekli ar DAPI.
17. Uzlieciet segstikliņu, izvadiet burbuļus un ļaujiet krāsai tumsā attīstīties 10 minūtes.
18. Skatiet fluorescences mikroskopā (sk. „**Uz fluorescences mikroskopu attiecināmie ieteikumi**”).

Ieteikumi attiecībā uz procedūru

1. Priekšmetstikliņu karsēšana vai novecošanās var samazināt signāla fluorescenci.
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 zemas pielādes gadījumā iespējama nespecifiska sasaiste, savukārt pārāk augstas pielādes gadījumā iespējama signāla nepietiekamība.
5. Nepilnīgas denaturēšanas signāli var neveidoties, savukārt pārmērīga denaturēšana arī var izraisīt nespecifisku sasaisti.
6. Pārmērīgas hibridizācijas dēļ iespējami papildu vai neparedzēti signāli.
7. Pirms testa izmantošanas diagnostikas nolūkiem lietotajiem 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

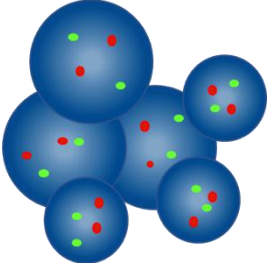
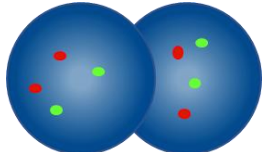
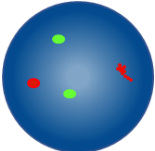
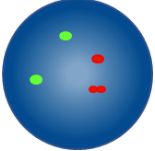
Paraugu nedrīkst analizēt tālāk norādītajos gadījumos.

- Signāli ir pārāk vāji analizēšanai atsevišķos filtros — lai veiktu analīzi, signāliem jābūt spilgtiem, labi izšķiramiem un viegli novērtējamiem.
- Ir daudz salīpušu/pārklājošo šūnu, kas traucē veikt analīzi.
- >50% šūnu nav hibridizētas.
- Starp šūnām atrodas pārāk daudz fluorescences daļiņu un/vai fluorescences dūmakas, kas rada signāla traucējumus, — optimālā priekšmetstikliņā ar paraugu fonam jābūt tumšam vai melnam un tīram.

- Šūnu kodolu robežas nav izšķiramas un nav veselas.

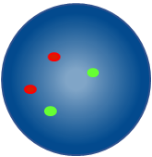
Uz analīzi attiecināmās vadlīnijas

- 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 jāšāk analīze no priekšmetstiklīņa kreisās puses, savukārt otram laboratorijas speciālistam — no priekšmetstiklīņa 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 automātiskā fluorescence.
- 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 šķīst 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.
- 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 zondes platumi

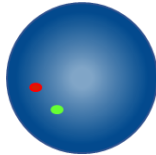
Paredzamie rezultāti

Paredzamais normālu signālu modelis



Normālā šūnā ir paredzami divi sarkani un divi zaļi signāli (2R2G).

Paredzamais normai neatbilstošo signālu modelis



Viena sarkana un viena zaļa signāla modelis (1R1G) ir novērojams 7. hromosomas monosomijas vai abu PDR hemizigotas delēcijas 7q šūnās.

Citi signālu modeļi ir iespējami aneiploīdos/nelīdzsvarotos paraugos.

Zināmie būtiskie traucējumi/traucējošās vielas

Nav zināmu būtisku traucējumu/traucējošu vielu.

Zināmā krusteniskā reaktivitāte

Nav zināmas krusteniskās reaktivitātes.

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, ziņojiet par to ražotājam un valsts atbildīgajai iestādei. Attiecībā uz nopietniem negadījumiem citās valstīs, ziņojiet par to ražotājam un, ja paredzēts, savas valsts atbildīgajai iestādei. Ražotāja uzraudzības kontaktinformācija: vigilance@oqt.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 veikspējas raksturlielumi

Anālītiskais specifiskums

Anālītiskais 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 200 datu punktus vienam komponentam. Katras hibridizētās zondes atrašanās vieta ir kartēta, un ir ierakstīts metafāzes hromosomu FISH signālu skaits, kas hibridizējās uz pareizo lokusu.

Katras komplekta zondes anālītiskais 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 Del(7q) Deletion Probe anālītiskais specifiskums

Mērķis	Hibridizēto metafāzes hromosomu skaits	Pareizi hibridizēto lokusu skaits	Anālītiskais specifiskums	95% ticamības intervāls
7q22	200	200	100%	98,12%–100%
7q31.2	200	200	100%	98,12%–100%

Anālītiskais jutīgums

Anālītiskais jutīgums tiek izteikts kā novērtējams starpfāzes šūnu ar paredzamu normālo signālu modeli procentuālā vērtība. Visos 25 Karnuā šķīdumā (metanols/etiķskābe 3:1) fiksētos kariotipiski parastos kaulu smadzeņu paraugos analizēja vismaz 200 starpfāzes šūnas, katram parauga tipam iegūstot vismaz 5000 kodolus. 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 Del (7q) Deletion Probe anālītiskais jutīgums

Parauga tips	Jutīguma kritēriji	Jutīguma rezultāts
Kaulu smadzenes	>95%	98,9% (98,62%, 99,18%)

Normai atbilstošu robežvērtību raksturojums

Normai atbilstoša robežvērtība tiek definēta kā to šūnu procentuālā vērtība, kas uzrāda kļūdaini pozitīvu signālu modeli, kurā indivīds tiktu uzskatīts par normalitāti un neatbilstošs klīniskajai diagnozei. Visās 1300 kaulu smadzeņu paraugos analizēja vismaz 200 starpfāzes paraugi šūnas, iegūstot vismaz 260000 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 kļūdaini pozitīvu signālu modeli, izmantojot binomiālās izplatības vienpusējās 95% pārliecības intervāla augšējo robežu normai atbilstošā pacienta paraugā.

3. tabula. Zondes Del (7q) Deletion Probe normai atbilstošu robežvērtību raksturojums

Parauga tips	Robežvērtības rezultāts
Kaulu smadzenes	7,4%

Laboratorijām jāveic robežvērtību verifikācija, izmantojot savus datus^{5,6}.

Reproducējamība

- Reproducējamības pētījumi tika veikti, lai noteiktu:
- Reproducējamība vienā dienā 3 laboratorijās (paraugu līmenis)
 - Reproducējamība dažādās dienās 3 laboratorijās (dienas līmenis)
 - Reproducējamība dažādās laboratorijās (laboratorijas līmenis)
 - Dažādu partiju reproducējamība vienā laboratorijā (partijas līmenis)

Reproducējamība tika noteikta trīs atsevišķās laboratorijās, kurās tika testēti seši kodēti paraugi (divi negatīvi attiecībā uz delēciju, divi zema līmeņa pozitīvi paraugi, kas 1–3 reizes pārsniedza robežvērtību, un divi augsta līmeņa pozitīvi paraugi, kuros vairāk nekā 45% šūnu bija pozitīvas attiecībā uz delēciju). Analīze tika veikta, izmantojot divus katra parauga replikātus piecu nesecīgu dienu laikā.

Visās trīs laboratorijās veica testēšanu vienā dienā, dažādās dienās un dažādās laboratorijās, izmantojot vienu zonžu partiju, kā arī vienā no laboratorijām tika testēta dažādu partiju reproducējamība, izmantojot trīs atšķirīgas zonžu partijas.

Rezultāti tika pasniegti kā vispārēja konverģence ar prognozētu negatīvo klasi (negatīviem paraugiem) un prognozētu pozitīvu klasi (pozitīviem paraugiem).

4. tabula. Zondes Del (7q) Deletion Probe reproducējamība

Reproducējamības pētījums	Parauga tips	Konverģence
Reproducējamība vienā dienā (paraugu līmenis), dažādās dienās (dienas līmenis) un dažādās laboratorijās (laboratorijas līmenis)	Kaulu smadzenes, negatīvs	100%
	Kaulu smadzenes, zema līmeņa pozitīvi paraugi	100%
	Kaulu smadzenes, augsta līmeņa pozitīvi paraugi	100%
Dažādas partijas (partijas līmenis) reproducējamība	Kaulu smadzenes, negatīvs	100%
	Kaulu smadzenes, zema līmeņa pozitīvi paraugi	100%
	Kaulu smadzenes, augsta līmeņa pozitīvi paraugi	100%

Klīniskā veikspēja

Lai nodrošinātu to, ka produkts konstatē paredzētos pārkārtojumus, klīniskā veikspēja tika noteikta 3 retrospektīvos pētījumos produktam paredzētās populācijas reprezentējošiem paraugiem. Metanolā/etiķskābē (3:1) fiksēts materiāls no deidentificētiem, hematoloģiski iegūtiem paraugiem. Pētījumos tika kombinēts paraugu apjoms ar 796 paraugu materiāliem, tostarp 65 pozitīviem paraugiem un 731 negatīvu paraugu materiāliem. Rezultāti tika salīdzināti ar zināmo parauga statusu. Tika konstatēts, ka rezultātu atbilstība/neatbilstība atbilst šā pētījuma akceptēšanas kritērijiem.

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 Del (7q) Deletion Probe klīniskā veikspēja

Mainīgais	rezultāts
Klīniskais jutīgums (patiesi pozitīvo rezultātu rādītājs (true positive rate, TPR))	97,95%
Klīniskais specifiskums (patiesi negatīvo rezultātu rādītājs (true negative rate, TNR))	99,23%
Kļūdaini pozitīvo rezultātu rādītājs (false positive rate, FPR) = 1 – specifiskums	0,77%

Drošuma un veikspējas 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: 50558449LPH025JF

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

Papildinformācija

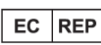
Lai saņemtu papildinformāciju par produktu, sazinieties ar CytoCell tehniskā atbalsta nodaļu.
Tālr.: +44 (0)1223 294048
E-pasta adrese: techsupport@cytozell.com
Tīmekļa vietne: www.ogt.com

Atsauces

1. Jerez *et al.*, Blood 2012;119(25):6109-6118
2. Fisher *et al.*, Blood 1997;89(6):2036-2041
3. Trobaugh-Lotrario *et al.*, Bone Marrow Transplantation 2005;35(2):143-149
4. Arsham, MS., Barch, MJ. and Lawce HJ. (eds.) (2017) *The AGT Cytogenetics Laboratory Manual*. New Jersey: John Wiley & Sons Inc.
5. 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.
6. 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 vārdnīca

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)
	Iv: Ražotājs	5.1.1.
	Iv: Pilnvarotais pārstāvis Eiropas Kopienā/Eiropas Savienībā	5.1.2.
	Iv: Derīguma termiņš	5.1.4.
	Iv: Partijas kods	5.1.5.
	Iv: Kataloga numurs	5.1.6.
	Iv: Sargāriet no tiešiem saules stariem	5.3.2.
	Iv: Temperatūras ierobežojums	5.3.7.
	Iv: Skatīt lietošanas instrukciju	5.4.3.
	Iv: Skatīt elektronisko lietošanas instrukciju ogt.com/IFU	5.4.3.
	Iv: Uzmanību!	5.4.4.
	Iv: <i>In vitro</i> diagnostikas medicīniskā ierīce	5.5.1.
	Iv: Saturs ir pietiekams <n> testiem	5.5.5.
	Iv: Unikālais ierīces identifikators	5.7.10.
EDMA simboli IVD reaģentiem un komponentiem, 2009. gada oktobra redakcija		
Simbols	Nosaukums	Atsauces numurs(-i)
	Iv: Sastāvs (vai saturs)	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

Fakss: +44 (0)1223 294986

E-pasta adrese: probes@cytoCell.com

Tīmekļa vietne: www.oqt.com

**Sysmex Europe SE**

Bornbarch 1
22848 Norderstedt
VĀCIJA

Tālr.: +49 40 527260

Tīmekļa vietne: www.sysmex-europe.com

Lietošanas instrukcijas variantu vēsture

V001 2023-07-21: Jauna lietošanas instrukcija atbilstoši Regulai (ES) 2017/746

V002 2025-08-29: UKCA zīmes noņemšana