



A Sysmex Group Company



## Lietošanas instrukcijas

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

### P53 (TP53)/ATM Combination Deletion Probe



TIKAI PROFESIONĀLAM LIETOJUMAM



Papildinformācija un informācija citās valodās ir pieejama vietnē [ogt.com/IFU](http://ogt.com/IFU)

#### Paredzētais lietošanas mērķis

Zonde CytoCell® P53 (TP53)/ATM Combination Deletion Probe ir kvalitatīvs, neautomatizēts luminiscentās *in situ* hibridizācijas (fluorescence in situ hybridisation — FISH) tests, kas paredzēts hromosomālo delēciju noteikšanai 11. hromosomas reģionā 11q22.3 un 17. hromosomas reģionā 17p13 Karnuā šķīdumā (3:1 metanols/etiķskābe) fiksētās hematoloģiski iegūtās šūnu suspensijās no pacientiem, kuriem ir konstatēta hroniska limfocitiskā leikēmija (HLL) vai pastāv aizdomas par tās esamību.

#### Lietošanas indikācijas

Šī ierīce ir paredzēta kā citu klīnisko un histopatoloģisko testu papildinājums atzītās diagnostikas un klīniskās aprūpes metodēs, kad informācija par P53 (TP53) vai ATM 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, un tas ietver TP53 un ATM reģionus. Izmantojot šo ierīci, var netikt noteikti genomiskie zudumi ārpus šī reģiona vai daļēji šī reģiona zudumi.

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

Šī ierīce nav validēta paraugu veidiem, slimību tipiem 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 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.

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 sekvences metafāzu hromosomās vai starp fāzes kodolos fiksētiem citogēniskiem paraugiem. Šajā metodē tiek izmantotas DNS sondes, kas hibridizējas ar veselām hromosomām vai atsevišķām unikālām sekvencēm un kalpo kā efektīvs G joslu citogēniskās 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 sekvence. Pēc hibridizācijas nesaisītā un nespecifiski saistītā DNS zonde tiek izvilktā un DNS tiek kontrastēta vizualizācijai. Pēc tam, izmantojot fluorescences mikroskopiju, hibridizēto zondi var vizualizēt mērķa materiālā.

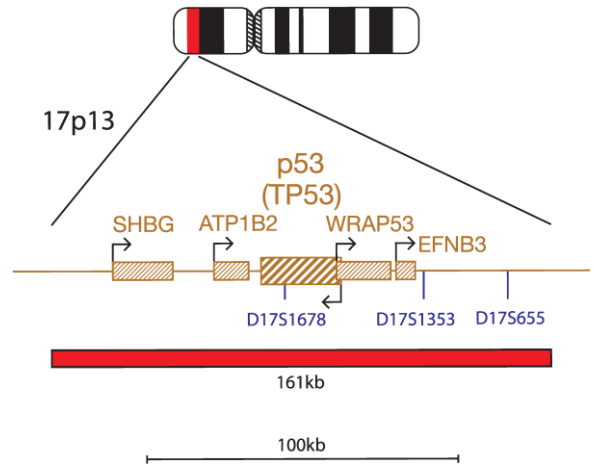
#### Informācija par zondi

Antionkogēns TP53 (onkoproteīns P53), kas atrodas reģionā 17p13, un proteīnkināzes ATM (ATM serīna/treonīna kināzes) gēns, kas atrodas reģionā 11q22.3, bieži ir deletēts hroniskas limfocitiskās leikēmijas (HLL) gadījumos. TP53 ir svarīgs antionkogēns, kā arī spēcīgs iedarbības transkripcijas faktors, kuram ir būtiska loma ģenētiskās stabilitātes nodrošināšanā.<sup>1</sup> TP53 zudums ir konstatējams 5–10% pacientu, kuri cieš no HLL, un tas ir nelabvēlīgs prognozes biomarķieris, kas prognozē rezistenci pret ķīmijterapiju.<sup>2,3,4</sup> ATM ir svarīgs kontrolpunkta gēns, kas iesaistīts šūnu bojājumu<sup>5</sup> pārvaldībā. ATM zudums ir konstatējams 10–20% pacientu, kuri cieš no HLL.<sup>2</sup> Divas visbiežāk novērojamas hromosomu aberācijas HLL gadījumā ir 11q un 17p delēcijas; del(11q) iznīcina ATM, bet del(17p) dēļ zūd TP53<sup>4</sup>.

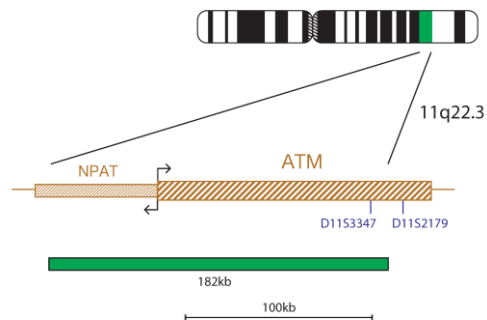
#### Zondes specifikācija

P53, 17p13, sarkans  
ATM, 11q22.3, zaļš

CMP-H040 V005.00



CMP-H041 v005.00



P53 komponentā ietilpst 161 kb zonde, marķēta sarkanā krāsā, kas nosedz visu P53 (TP53) gēnu un tam pieguļošos reģionus. ATM komponentā ietilpst 182 kb zonde, marķēta zaļā krāsā, kas nosedz NPAT gēna telomērisko galu un ATM gēna centromērisko galu aiz D11S3347 marķiera.

#### 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 (salīne-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

- 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 cietajiem 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.

DS1065/CE-lv v001.00/2024-01-08 (CMP-H040 V005 CMP-H041 V005)

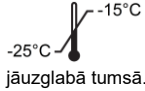
1. lpp. no 5

- 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 netiek izmantoti 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 flakonī ir jāuzglabā tumšā.



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 nodrošinātājā gaismas necaurlaidīgajā konteinerī. Komponenti, kas izmantoti un uzglabāti apstākļos, kas nav norādīti marķējumā, var nedarboties, kā paredzēts, un tie var negatīvi ietekmēt analīzes rezultātus. Ir jādarā viss iespējamais, lai ierobežotu gaismas un temperatūras svārstību ietekmi.

#### Aprīkojums un materiāli, kas ir nepieciešami, bet nav iekļauti komplektācijā

Ir jāizmanto kalibrēts aprīkojums:

- Sildierīce (ar cietu sildvirsmu un precīzu temperatūras regulēšanu līdz pat 80 °C)
- Kalibrētas mainīga tilpuma mikropipetes un uzgaļi 1–200 µl diapazonā
- Ūdens vanna ar precīzu temperatūras regulēšanu 37 °C un 72 °C
- Mikrocentrifūgas mēģenes (0,5 ml)
- Fluorescences mikroskops (sk. sadaļu "Uz fluorescences mikroskopu attiecināmie ieteikumi")
- Fāžu kontrasta mikroskops
- Tīri plastmasas, keramikas vai karstumizturīga stikla Koplina trauki
- Pincete
- Kalibrēta pH mērierīce (vai pH indikatora strēmeles, ar kurām var veikt mērījumus pH 6,5–8,0 diapazonā)
- Konteiners ar mitru vidi
- Fluorescence atbilstoša mikroskopa objektīva iegremdēšanas eļļa
- Galda centrifūga
- Mikroskopa priekšmetstikliņi
- 24x24 mm segstikliņi
- Taimeris
- 37 °C inkubators
- Gumijas līme
- Virpuļmaisītājs
- Mērcilindri
- Magnētiskais maisītājs
- Kalibrēts termometrs

#### Papildaprīkojums, kas nav ietverts komplektācijā

- Citoģenētiskā žāvēšanas kamera

#### Nepieciešamie reaģenti, kas nav ietverti komplektācijā

- 20x citrāta fizioloģiskais šķīdums (saline-sodium citrate — SSC)
- 100% etanols
- Tween-20
- 1M nātrija hidroksīds (NaOH)
- 1M sālskābe (HCl)
- Attīrīts ūdens

#### Uz fluorescences mikroskopu attiecināmie ieteikumi

Lai nodrošinātu optimālu zaļo un sarkano fluoroforu vienlaicīgu 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 <sub>max</sub> [nm]	Izstarošana <sub>max</sub> [nm]
Zaļš	495	521
Sarkans	596	615

Pārlicinieties, vai mikroskops ir 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 fluorescences mikroskopu, lai pārlicinātos, 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 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 šķīdumā (3:1 metanols/etiķskābe), no pacientiem, kuriem ir konstatēta hroniska limfocitiskā leikēmija (HLL) vai arī pastāv aizdomas par tās esamību, un ir sagatavotas atbilstoši laboratorijā vai iestādē spēkā esošajām vadlīnijām. Sagatavojiet gaisā nožāvētus paraugus uz mikroskopa priekšmetstikliņiem atbilstoši standarta citoģenētiskajām procedūrām. AGT *citoģenētiskās laboratorijas rokasgrāmatā* ir ietverti ieteikumi par paraugu paņemšanu, kultivēšanu, ievākšanu un priekšmetstikliņu sagatavošanu<sup>6</sup>.

#### 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 krāsvielas pēc iespējas mazāk tiktu pakļauta laboratorijas apgaismojuma iedarbībai.)

#### Priekšmetstikliņa sagatavošana

- 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% mitrumu. Ja citoģenētiskā žāvēšanas kamera nav pieejama, kā alternatīvu var izmantot gāzu nosūcēju).
- Iegremdējiet priekšmetstikliņu 2xSSC šķīdumā istabas temperatūrā 2 minūšu ilgumā, bez maisīšanas.
- Veiciet dehidrēšanas etanolā sērijas (70%, 85% un 100%), katru 2 minūtes istabas temperatūrā.
- Ļaujiet nožūt.

#### Iepriekšēja denaturēšana

- Izņemiet zondi no saldētavas un ļaujiet tai sasilt līdz istabas temperatūrai. Pirms mēģeņu lietošanas brīdī tās centrifugējiet.
- Izmantojot pipeti, pārlicinieties, vai zondes šķīdums ir viendabīgi samaisīts.
- Paņemiet 10 µl zondes šķīduma katram testam un pārnesiet to uz mikrocentrifūgas mēģeni. Atlikušo zondes šķīdumu nekavējoties ievietojiet atpakaļ saldētavā.
- Novietojiet zondi un parauga priekšmetstikliņu uz sildierīces un veiciet priekšsildīšanu 37 °C (+/- 1 °C) temperatūrā 5 minūšu ilgumā.
- Uzpilniet 10 µl zondes maisījuma uz šūnu parauga un uzmanīgi uzlieciet segstikliņu. Hermetizējiet ar gumijas līmi un ļaujiet līmei pilnībā nožūt.

#### Denaturēšana

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

#### Hibridizācija

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

#### Skalošana pēc hibridizācijas

- Izņemiet DAPI no saldētavas un ļaujiet tam sasilt līdz istabas temperatūrai.
- Noņemiet segstikliņu un rūpīgi notīriet visas līmes atliekas.
- Iegremdējiet priekšmetstikliņu 0,4xSSC (pH 7,0) 72 °C (+/- 1 °C) temperatūrā 2 minūšu ilgumā, bez maisīšanas.
- Noteciniet šķīdumu no priekšmetstikliņa un iegremdējiet to 2xSSC, 0,05% Tween-20 šķīdumā istabas temperatūrā (pH 7,0) uz 30 sekundēm netaisot.
- Noteciniet šķīdumu no priekšmetstikliņa un katram paraugam pievienojiet 10 µl fluorescences uzturēšanas līdzekli ar DAPI.
- Uzlieciet segstikliņu, izvadiet burbulus 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 novecošana 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 zemas pielāgšanas gadījumā iespējama nespecifiska sasaiste, savukārt pārāk augsta pielāgšana iespējama signāla nepietiekamība.
5. Nepilnīga denaturēšana var izraisīt signāla nepietiekamību, savukārt pārmērīga denaturēšana arī var izraisīt nespecifisku sasaisti.
6. Pārmērīga 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**

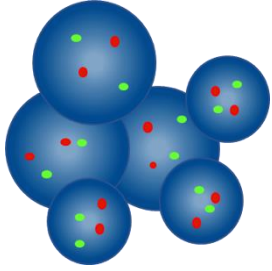
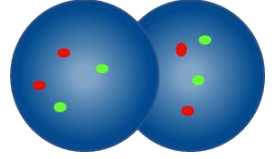
**Sagatavotā priekšmetstikliņa ar paraugu kvalitātes novērtēšana**

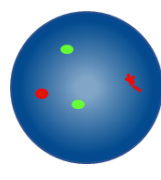
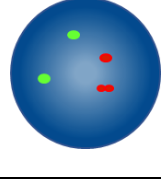
Paraugu nedrīkst analizēt tālāk norādītajos gadījumos.

- Signāli ir pārāk vāji analizēšanai atsevišķos filtrus — lai veiktu analīzi, signāliem jābūt spilgtiem, labi izšķiramiem un viegli novērtējamiem
- Ir daudz salīpušu/pārklājošos 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**

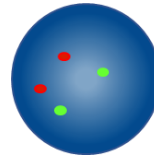
- Katra parauga analīzi un interpretēšanu ir jāveic diviem laboratorijas speciālistiem. Visas neatbilstības ir jānovērš, novērtēšanu veicot trešajam laboratorijas speciālistam
- Katram laboratorijas speciālistam jābūt attiecīgi kvalificētam atbilstoši spēkā esošajiem valsts līmeņa standartiem
- Katram laboratorijas speciālistam neatkarīgi jāveic novērtēšana 100 kodoliem no katra parauga. Pirmajam laboratorijas speciālistam jāšāk analīze no 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 automātiskā fluorescences
- 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.
- 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

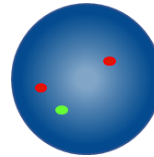
**Paredzami rezultāti**

Paredzamais normālu signālu modelis

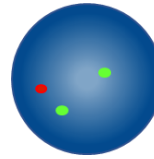


Normālā šūnā ir paredzami divi sarkani un divi zaļi signāli (2S2Z).

Paredzami anormālo signālu modeļi



Šūnā ar *ATM* delēciju ir paredzami divi sarkani un viens zaļš signāls (2S1Z).



Šūnā ar *TP53* delēciju ir paredzams viens sarkans un divi zaļi signāli (1S2Z).

Citi signālu modeļi ir iespējami aneiploīdos/nepildzsvartos paraugos.

**Zināmie būtiskie traucējumi/traucējošās vielas**

Nav zināmu būtisku traucējumu/traucējošu vielu.

**Zināmā krusteniskā reaktivitāte**

Nav zināmas krusteniskās reakcijas.

**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, lūdz, ziņojiet par to ražotājam un valsts atbildīgajai iestādei.

Attiecībā uz nopietniem negadījumiem citās valstīs, lūdz, ziņojiet par to ražotājam un, ja paredzēts, savas valsts atbildīgajai iestādei.

Ražotāja uzraudzības kontaktinformācija: [vigilance@ogt.com](mailto: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](https://health.ec.europa.eu/medical-devices-sector/new-regulations/contacts_en)

**Specifiskās veiktspējas raksturlielumi**

**Anālītiskais specifiskums**

Anālītiskais specifiskums tiek definēts kā to signālu procentuālā vērtība, kas hibridizējas uz pareizo lokusu un nekādu citu vietu. Katrā no divdesmit (20) metafāzes šūnām no pieciem (5) kariotipiski normālu vīriešu šūnu paraugiem, kas fiksēti 3:1 metanola/etiķskābes šķīdumā un iegūti no perifērajām asinīm, tika analizēti četri (4) hromosomu lokusi, dodot 400 datu punktus. Katras hibridizētās zondes atrašanās vieta ir kartēta, un ir ierakstīts metafāzes hromosomu luminiscētās in situ hibridizācijas (Fluorescence in situ hybridisation — 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 P53 (TP53)/ATM Combination Deletion Probe analītiskais specifiskums

Mērķis	Hibridizēto metafāzes hromosomu skaits	Pareizi hibridizēto lokusu skaits	Analītiskais specifiskums	95% ticamības intervāls
17p13	200	200	100%	98,12%–100%
11q22.3	200	200	100%	98,12%–100%

**Analītiskais jutīgums**

Analītiskais jutīgums tiek izteikts kā novērtējamo starpfāzes šūnu ar paredzamu normālu signālu modeli procentuālā vērtība. Katrai no 25 fiksētām kaulu smadzeņu šūnu suspensijām, kas tika uzskatītas par negatīvām attiecībā uz *TP53* vai *ATM* delēciju, tika analizētas vismaz 200 starpfāzes šūnas, rezultātā sniedzot vismaz 5000 kodolus katram parauga veidam. Jutīguma dati tika analizēti, pamatojoties uz šūnu procentuālo vērtību, kas parāda normālu paredzamo signālu modeli un tiek izteikti kā procentuālā vērtība ar 95% ticamības intervālu.

2. tabula. Zondes P53 (TP53)/ATM Combination Deletion Probe analītiskais jutīgums

Parauga veids	Jutīguma kritēriji	Jutīguma rezultāts
Kaulu smadzenes	> 95%	96,32% (95,59–97,05%)

**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. Katrai no 25 fiksētām kaulu smadzeņu šūnu suspensijām, kas tika uzskatītas par negatīvām attiecībā uz *TP53* vai *ATM* delēciju, tika analizētas vismaz 200 starpfāzes šūnas, rezultātā sniedzot vismaz 5000 kodolus katram parauga veidam.

Robežvērtība tika noteikta, programmā MS Excel izmantojot  $\beta$  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 normālā pacienta paraugā.

3. tabula. Zondes P53 (TP53)/ATM Combination Deletion Probe normai atbilstošu robežvērtību raksturojums

Parauga veids	Signālu modelis	Robežvērtības rezultāts
Kaulu smadzenes	2S1Z	3,78%
	1S2Z	8,97%

Laboratorijām jāveic robežvērtību verifikācija, izmantojot savus datus<sup>7,8</sup>.

**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 trīs (3) paraugi: viens normāls kaulu smadzeņu paraugs (ar FISH metodi iegūts negatīvs rezultāts gan *TP53*, gan *ATM* delēcijai pirms izmantošanas pētījumā), viens 2S1Z *ATM* delēcijas kaulu smadzeņu paraugs ar nelielu pozitīvu rezultātu un viens 1S2Z *TP53* delēcijas kaulu smadzeņu paraugs ar nelielu pozitīvu rezultātu. Nedaudz pozitīvie kaulu smadzeņu paraugi tika iegūti, izmantojot negatīvu kaulu smadzeņu paraugu proporciju un pievienojot tai pārbaudīti pozitīvu kaulu smadzeņu paraugu ar mērķi izgatavot nedaudz pozitīvus paraugus 2–4x produkta robežvērtības diapazonā, lai pārbaudītu noteikto robežvērtību.

Lai noteiktu starpdienu un dienas precizitāti, paraugi tika izvērtēti desmit (10) neseicīgu datumu laikā, un, lai noteiktu precizitāti no partijas uz partiju, trīs (3) produkta partijas tika novērtētas ar vienu un tā paša parauga trīs (3) atkārtotiem. Rezultāti tika pasniegti kā vispārēja konverģence ar prognozētu negatīvo klasi (negatīviem paraugiem).

4. tabula. Zondes P53 (TP53)/ATM Combination Deletion Probe reproducējamība un precizitāte

Mainīgais	Parauga veids	Konverģence
Dienas (paraugu līmenī) un starpdienu (dienas līmenī) reproducējamība	Kaulu smadzenes, negatīvs	100%
	Kaulu smadzenes, zema līmeņa pozitīvi paraugi 2S1Z ( <i>ATM</i> delēcija)	96,7%
	Kaulu smadzenes, zema līmeņa pozitīvi paraugi 1S2Z ( <i>TP53</i> delēcija)	100%
Starppartiju reproducējamība	Kaulu smadzenes, negatīvs	100%
	Kaulu smadzenes, zema līmeņa pozitīvi paraugi 2S1Z ( <i>ATM</i> delēcija)	88,9%
	Kaulu smadzenes, zema līmeņa pozitīvi paraugi 1S2Z ( <i>TP53</i> delēcija)	100%

**Klīniskā veiktspēja**

Lai nodrošinātu to, ka produkts konstatē paredzētās delēcijas, klīniskā veiktspēja tika noteikta vienā (1) pētījumā produktam paredzētās populācijas reprezentējošiem paraugiem: Karnuā šķīdumā (3:1 metanols/etiķskābe) fiksētās hematoloģiski iegūtās šūnu suspensijās no pacientiem, kuriem ir konstatēta hroniska limfocitiska leikēmija (HLL) vai pastāv aizdomas par tās esamību. Pētījumā izmantoto paraugu apjoms bija trīsdesmit (30) paraugi, un mērķa populācija bija vienpadsmit (11) pozitīvi un deviņpadsmit (9) negatīvi paraugi attiecībā uz *ATM* delēciju, kā arī vienpadsmit (11) pozitīvi un deviņpadsmit (9) negatīvi paraugi attiecībā uz *TP53* delēciju. Visi paraugi tika deidentificēti, un rezultāti tika salīdzināti ar zināmo parauga statusu. 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 P53 (TP53)/ATM Combination Deletion Probe klīniskā veiktspēja — *ATM* delēcija

Mainīgais	Rezultāts
Klīniskais jutīgums (pareizi pozitīvo rezultātu rādītājs (true positive rate — TPR))	99,93%
Klīniskais specifiskums (pareizi negatīvo rezultātu rādītājs (true negative rate — TNR))	99,99%
Kļūdaini pozitīvo rezultātu rādītājs (false positive rate — FPR) = 1 – specifiskums	0,01%

6. tabula. Zondes P53 (TP53)/ATM Combination Deletion Probe klīniskā veiktspēja — *TP53* delēcija

Mainīgais	Rezultāts
Klīniskais jutīgums (pareizi pozitīvo rezultātu rādītājs (true positive rate — TPR))	100,0%
Klīniskais specifiskums (pareizi negatīvo rezultātu rādītājs (true negative rate — TNR))	100,0%
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: 50558449LPH052JJ

Ja Eudamed nedarbojas pilnībā, SSP ir publiski pieejams pēc pieprasījuma pa e-pastu [SSP@oqt.com](mailto:SSP@oqt.com).

**Papildinformācija**

Lai saņemtu papildinformāciju par produktu, sazinieties ar CytoCell tehniskā atbalsta nodaļu.

Tālr.: +44 (0)1223 294048



E-pasta adrese: [techsupport@cytoCELL.com](mailto:techsupport@cytoCELL.com)













Timekļa vietne: [www.oqt.com](http://www.oqt.com)

**Atsauces**

- Dohner, et al. N Eng J Med. 2000;343:1910-1916.
- Rossi D, et al. Blood. 2013 Feb 21;121(8):1403-12.
- Baliakas P, et al. Leukemia. 2014;(April):1-8.
- WHO Classification of Tumours Editorial Board. Haematolymphoid tumours [Internet; beta version ahead of print]. Lyon (France): International Agency for Research on Cancer; 2022 [cited 2023 December 18]. (WHO classification of tumours series, 5th ed.; vol. 11). Available from: <https://tumourclassification.iarc.who.int/chapters/63>
- Stankovic, et al., Blood. 2004;103(1):291-300.
- Arsham, MS., Barch, MJ. and Lawce HJ. (eds.) (2017) *The AGT Cytogenetics Laboratory Manual*. New Jersey: John Wiley & Sons Inc.
- Mascarello JT, Hirsch B, Kearney HM, et al. Section E9 of the American College of Medical Genetics technical standards and guidelines: fluorescence in situ hybridization. Genet Med. 2011;13(7):667-675.
- Wiktor AE, Van Dyke DL, Stupca PJ, Ketterling RP, Thorland EC, Shearer BM, Fink SR, Stockero KJ, Majorowicz JR, Dewald GW. *Preclinical validation of fluorescence in situ hybridization assays for clinical practice*. Genetics in Medicine. 2006;8(1):16–23.

**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: Sargājiet 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 <a href="http://ogt.com/FU">ogt.com/FU</a>	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.
<b>EDMA simboli IVD reaģentiem un komponentiem, 2009. gada oktobra redakcija</b>		
<b>Simbols</b>	<b>Nosaukums</b>	<b>Atsauces numurs(-i)</b>
	Iv: Saturs (vai sastāvs)	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](mailto:probes@cytoCell.com)  
Tīmekļa vietne: [www.ogt.com](http://www.ogt.com)



**Sysmex Europe SE**  
Bornbarch 1  
22848 Norderstedt  
VĀCIJA

Tālr.: +49 40 527260  
Tīmekļa vietne: [www.sysmex-europe.com](http://www.sysmex-europe.com)

#### Lietošanas instrukcijas variantu vēsture

V001 2024-01-08: Jauna lietošanas instrukcija atbilstoši Regulai (ES) 2017/746.