



A Sysmex Group Company



## Käyttöohje

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

## P53 (TP53)/ATM Combination Deletion Probe



VAIN AMMATTIKÄYTTÖÖN



Lisätietoja ja muita kieliä saatavilla osoitteesta [ogt.com/IFU](http://ogt.com/IFU)

### Käyttötarkoitus

CytoCell® P53 (TP53)/ATM Combination Deletion Probe -koetin on kvalitatiivinen, ei-automatisoitu, FISH (fluorescence *in situ* hybridisation) -testi, jota käytetään kromosomien deleetioiden havaitsemiseen kromosomin 11 alueen 11q22.3 ja kromosomin 17 alueen 17p13 välillä Carnoy'n liuokseen (3:1 metanoli/etikahappo) fiksoiduille, hematologisesti johdetuille solususpensioille potilailta, joilla on epäily tai vahvistettu krooninen lymfaattinen leukemia (CLL).

### Käyttöaiheet

Tämä laite on suunniteltu käytettäväksi muiden kliinisten ja histopatologisten testien lisäksi vakiintuneissa diagnostiikan ja kliinisen hoidon hoitopoluissa, joissa P53 (TP53)- tai ATM-deleetiostatuksen tunteminen olisi tärkeää kliiniselle hoidolle.

### Rajoitukset

Laite on suunniteltu havaitsemaan genomien puuttumista suuremmalta kuin tämän koetinsarjan punaisten ja vihreiden kloonien kattamalta alueelta, johon sisältyvät TP53- ja ATM-alueet. Tämä laite ei ehkä havaitse kyseisen alueen ulkopuolisia genomien puutteita tai tämän alueen osittaisia puutteita.

Tätä laitetta ei ole tarkoitettu käytettäväksi riippumattomaan diagnostiikkaan, kytkösdiaagnostiikkana, raskausajan tutkimuksiin, väestöpohjaiseen seulontaan, vieritestaukseen tai itsetestaukseen.

Tätä laitetta ei ole validoitu muille kuin käyttötarkoituksessa ilmoitetuille näytetyypeille, tautityypeille tai käyttökohteille.

Se on tarkoitettu muiden diagnostisten laboratoriotestien apuvälineeksi, eikä hoitotoimia saa käynnistää yksinomaan FISH-tuloksen perusteella.

Soveltuvan pätevyyden saaneen henkilöstön tekemän FISH-tulosten raportoinnin ja tulkinannon on oltava yhdenmukainen ammattimaisten käytäntöstandardien kanssa, ja niissä on otettava huomioon muut olennaiset testitulokset ja kliiniset ja diagnostiset tiedot.

Tämä laite on tarkoitettu vain ammattikäyttöön laboratoriossa.

Mikäli protokollaa ei noudateta, se saattaa vaikuttaa suorituskykyyn ja johtaa virheellisiin positiivisiin/negatiivisiin tuloksiin.

### Testin periaatteet

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

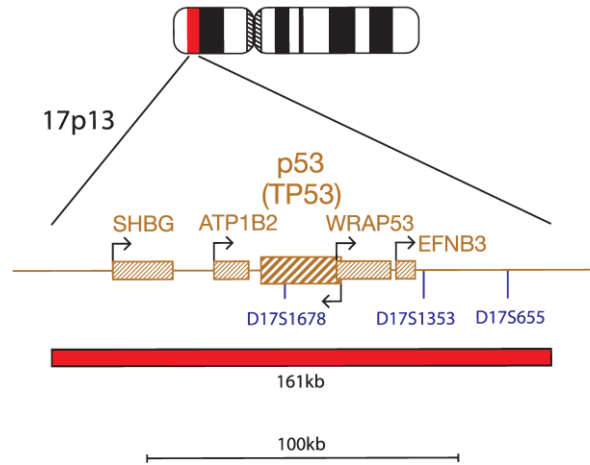
### Koettimen tiedot

Tuumorisuppressori TP53 (tumor protein p53, tuumoriproteiini p53) -geeni kohdassa 17p13 ja proteiinikinaasi ATM (ATM serine/threonine kinase, ATM-seriini/treoniinikinaasi) -geeni paikassa 11q22.3 ovat usein deleetituneet kroonisen lymfaattisen leukemian (CLL) tapauksissa. TP53 on tärkeä tuumorisuppressorigeeni; se toimii vahvana transkriptiotekijänä ja sillä on merkittävä tehtävä perimän vakauden ylläpitäjänä<sup>1</sup>. TP53 häviämistä on raportoitu 5–10 prosentilla CLL-potilaista, ja sitä pidetään kyseisen sairauden huonon ennusteen biomarkerina, joka ennustaa vastustuskykyä kemoterapialle<sup>2,3,4</sup>. ATM on tärkeä kontrollipistegeeni, joka on mukana solujen vaurioitumisen hallinnassa<sup>5</sup>. ATM:n häviämistä on raportoitu 10–20 prosentilla CLL-potilaista<sup>2</sup>. 11q- ja 17p-deleetiot ovat kaksi yleisintä CLL:n yhteydessä esiintyvää kromosomipoikkeamaa; del(11q) poistaa ATM:n, kun taas del(17p), aiheuttaa TP53:n häviämisen<sup>4</sup>.

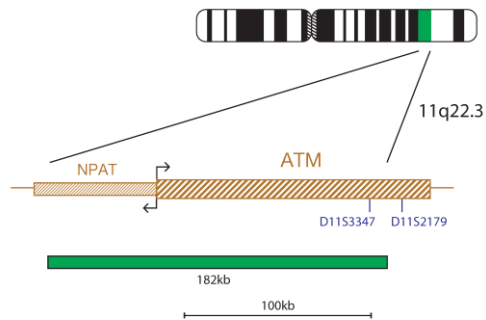
### Koettimen tekniset tiedot

P53, 17p13, punainen  
ATM, 11q22.3, vihreä

CMP-H040 V005.00



CMP-H041 v005.00



P53-komponentti sisältää punaisella leimatun 161 kb:n koettimen, joka kattaa koko P53 (TP53) -geenin ja sen viereiset alueet. ATM-komponentti sisältää vihreällä leimatun 182 kb:n koettimen, joka kattaa NPAT-geenin telomeeripuolen ja ATM-geenin sentromeerisen pään juuri D11S3347-markkerin yli.

### Toimitettavat materiaalit

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

**Vastaväri:** 150 µl pulloa kohti (15 testiä)

Vastaväri on DAPI Antifade ES (0,125 µg/ml DAPI (4,6-diamidiini-2-fenyylindoli) glyserolipohjaisessa preparointiaineessa).

### Varoitukset ja varoimet

1. *In vitro*-diagnostiseen käyttöön. Vain ammattikäyttöön laboratoriossa.
2. Koetinseokset sisältävät formamidia, joka on teratogeeni: älä hengitä höyryä sisään tai päästä ainetta kosketuksiin ihon kanssa. Käsiteltävä varoen: käytä käsineitä ja laboratoriotakkia.
3. Käsittele DAPIa varoen: käytä käsineitä ja laboratoriotakkia.
4. Ei saa käyttää, jos pullo on vaurioitunut tai jos pullon sisältö on voinut vahingoittua millään tavalla.
5. Hävitä tämä tuote turvallisesti noudattaen hävittämistä koskevia paikallisia määräyksiä ja käyttöturvallisuustiedotteessa annettuja suosituksia. Tämä koskee myös vahingoittunutta testisarjan sisältöä.
6. Hävitä kaikki käyttämätön reagenssi ja muu kontaminoitunut kertakäyttömateriaali tartuntavaarallista tai mahdollisesti tartuntavaarallista jätettä koskevien ohjeistusten mukaisesti. Kunkin laboratorion vastuulla on käsitellä kiinteää ja nestemäistä jätettä sen luonteen ja vaarallisuusasteen

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

Sivu 1/5

mukaisesti ja noudattaa sen käsittelyssä ja hävittämisessä sovellettavia määräyksiä (tai varmistaa niiden noudattaminen).

- Käyttäjien on pystyttävä erottamaan toisistaan punainen, sininen ja vihreä.
- Mikäli hahmoteltua protokollaa ei noudateta ja sen mukaisia reagensseja ei käytetä, se saattaa vaikuttaa suorituskyykyyn ja johtaa virheellisiin positiivisiin/negatiivisiin tuloksiin.
- Koetinta ei saa laimentaa tai sekoittaa muiden koetinten kanssa.
- Mikäli 10 µl:n koetinta ei käytetä protokollan esidenaturaatiovaiheessa, se saattaa vaikuttaa suorituskyykyyn ja johtaa virheellisiin positiivisiin/negatiivisiin tuloksiin.
- Kaikki tuotteet on validoitava ennen käyttöä.
- Sisäiset kontrollit on suoritettava käyttämällä muuttumattomia solupopulaatioita testinäytteissä.

#### Lämpötilojen tarkemmat määritelmät

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

#### Säilytys ja käsittely

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



FISH-koetin, DAPI Antifade ES -vastaväri ja hybridisaatioliuos pysyvät stabiileina normaalissa käytössä tapahtuvien pakastus- ja sulatusjaksojen ajan (kun yhden jakson aikana pullo poistetaan pakastimesta ja laitetaan takaisin pakastimeen) – 5 jaksoa 50 µl:n (5 testin) pullolle FISH-koetinta, 10 jaksoa 100 µl:n (10 testin) pullolle FISH-koetinta ja 15 jaksoa 150 µl:n

(15 testin) pullolle vastaväriä. Altistumista valolle on vältettävä ja minimoitava mahdollisuuksien mukaan. Säilytä komponentteja pakkauksen sisältämässä valonpitävässä säiliössä. Komponentit, joita on käytetty ja säilytetty pakkausmerkintöjen ohjeista poikkeavissa olosuhteissa, eivät välttämättä toimi odotetulla tavalla ja saattavat vääristää määrittämisen tuloksia. Valolle ja lämpötilan muutoksille altistumista on rajoitettava kaikin mahdollisin keinoin.

#### Tarvitavat laitteet ja materiaalit, jotka eivät sisälly pakkaukseen

Kalibroituja laitteistoja on käytettävä:

- Lämpölevy (kiinteällä levyllä ja tarkalla lämpötilan hallinnalla 80 °C:n lämpötilaan saakka)
- Kalibroidut tilavuudeltaan vaihtelevat mikropipetit ja kärjet, 1–200 µl
- Vesikylypy tarkalla lämpötilan hallinnalla 37 °C:n ja 72 °C:n lämpötilassa
- Mikrosentrifugiputket (0,5 ml)
- Fluoresenssimikroskooppi (katso Fluoresenssimikroskooppisuositus-osio)
- Vaihekontrastimikroskooppi
- Coplin-purkit puhdasta muovia, keramiikkaa tai lämmönkestävää lasia
- Pihdit
- Kalibroitu pH-mittari (tai pH-indikaattoriliuskat, joilla voidaan mitata 6,5–8,0:n pH-arvo)
- Kostutettu säiliö
- Fluoresenssiluokan mikroskooppilinnin immersioöljy
- Työpöytäsentrifugi
- Mikroskooppiobjektiivilasi
- 24 x 24 mm:n peitelasit
- Ajastin
- 37 °C:n inkubaattori
- Kumiliuosliima
- Pyörresekoitin
- Mittasylinterit
- Magneettinen sekoitin
- Kalibroitu lämpömittari

#### Valinnainen laitteisto, ei sisälly pakkaukseen

- Sytogeneettinen kuivauskammio

#### Tarvitavat reagenssit, jotka eivät sisälly pakkaukseen

- 20x suolaliuos-natriumsitraattiliuos (SSC)
- 100-prosenttinen etanoli
- Tween-20
- 1M natriumhydroksidi (NaOH)
- 1M suolahappo (HCl)
- Akkuvesi

#### Fluoresenssimikroskooppisuositus

Käytä 100 watin elohopealamppua tai vastaavaa ja öljyimmersiosuunnitelman 60/63x- tai 100x-apokromaattiobjektiiveja parhaaseen mahdolliseen visualisointiin. Tässä koetinsarjassa käytettävät loisteaineet virittyvät ja säteilevät seuraavilla aallonpituuksilla:

Loisteaine	Viritys <sub>Smaks</sub> [nm]	Emissio <sub>Smaks</sub> [nm]
Vihreä	495	521
Punainen	596	615

Varmista, että mikroskooppiin on sovitettu asianmukaiset viritys- ja emissiosuodattimet, jotka kattavat yllä luetellut aallonpituuudet.

Käytä DAPI- / vihreän spektrin / punaisen spektrin kolmoisikaistanpäästösuodatinta tai vihreän spektrin / punaisen spektrin kaksoisikaistanpäästösuodatinta vihreän ja punaisen loisteaineen optimaaliseen samanaikaiseen visualisointiin.

Tarkista fluoresenssimikroskooppi ennen käyttöä varmistaaksesi, että se toimii asianmukaisesti. Käytä immersioöljyä, joka soveltuu fluoresenssimikroskooppille ja jonka koostumus on tarkoitettu alhaiselle automaattiselle fluoresenssille. Vältä häipymistä ehkäisevän DAPIn sekoittamista mikroskoopin immersioöljyn kanssa, sillä se hämärtää signaaleita. Noudata valmistajien suosituksia lampun käyttöä ja suodatinten iän suhteen.

#### Näytteen valmistelu

Sarja on suunniteltu käytettäväksi Carnoy'n liuokseen (3:1 metanoli/etikkahappo) fiksoituihin,

hematologisesti johdettuihin solususpensioihin, jotka on otettu potilailta, joilla on vahvistettu tai epäilty lymfaattinen leukemia (CLL), ja valmistettu laboratorion tai laitoksen suuntaviivojen mukaisesti. Valmistele ilmakuivatut näytteet mikroskooppiobjektiivilaseille sytogeneettisten vakiotoimenpiteiden mukaisesti. AGT-sytogeneetikalaboratorion opaskirja sisältää suosituksia näytteen keräämisestä, viljelystä, poiminnasta ja objektiivilasi valmistelusta<sup>6</sup>.

#### Liuoksen valmistus

##### Etanoliliuokset

Laimenna 100-prosenttinen etanoli akkuedellä seuraavissa suhteissa ja sekoita huolellisesti:

- 70 % etanolia – 7 osaa 100-prosenttistä etanolia ja 3 osaa akkuedettä
  - 85 % etanolia – 8,5 osaa 100-prosenttistä etanolia ja 1,5 osaa akkuedettä
- Säilytä liuosta enintään 6 kuukautta huoneenlämpötilassa ilmatiiviissä säiliössä.

##### 2 x SSC-liuos

Laimenna 1 osa 20 x SSC-liuosta 9 osaan akkuedettä ja sekoita huolellisesti. Tarkista pH ja säädä pH-arvoon 7,0 käyttämällä natriumhydroksidia tai suolahappoa tarpeen mukaan. Säilytä liuosta enintään 4 viikkoa huoneenlämpötilassa ilmatiiviissä säiliössä.

##### 0,4 x SSC-liuos

Laimenna 1 osa 20 x SSC-liuosta 49 osaan akkuedettä ja sekoita huolellisesti. Tarkista pH ja säädä pH-arvoon 7,0 käyttämällä natriumhydroksidia tai suolahappoa tarpeen mukaan. Säilytä liuosta enintään 4 viikkoa huoneenlämpötilassa ilmatiiviissä säiliössä.

##### 2 x SSC, 0,05-prosenttinen Tween-20-liuos

Laimenna 1 osa 20 x SSC-liuosta 9 osaan akkuedettä. Lisää 5 µl Tween-20-liuosta 10 ml kohti ja sekoita huolellisesti. Tarkista pH ja säädä pH-arvoon 7,0 käyttämällä natriumhydroksidia tai suolahappoa tarpeen mukaan. Säilytä liuosta enintään 4 viikkoa huoneenlämpötilassa ilmatiiviissä säiliössä.

#### FISH-protokolla

(Huomautus: Varmista, että koettimen ja vastavärin altistuminen laboratoriovaloille on aina rajallista).

#### Objektiivilasin valmistelu

- Laita pisara solunäytettä mikroskooppiobjektiivilasilta. Anna kuivua. (Valinnaista, jos käytetään sytogeneettistä kuivauskammioita: Kammioita on käytettävä noin 25 °C:n lämpötilassa ja 50 %:n kosteudessa, jotta solunäytepisara voidaan asettaa optimaalisesti lasille. Mikäli sytogeneettistä kuivauskammioita ei ole saatavilla, käytä vaihtoehtoisesti vetokaappia.)
- Upota objektiivilasi 2 x SSC-liuokseen 2 minuutiksi huoneenlämpötilassa ravistamatta.
- Kuivaa kutakin etanolisarjassa (70 %, 85 % ja 100 %) 2 minuuttia huoneenlämpötilassa.
- Anna kuivua.

#### Esidenaturaatio

- Poista koetin pakastimesta ja anna sen lämmetä huoneenlämpötilaan. Sentrifugoi putkia lyhyen aikaa ennen käyttöä.
- Varmista, että koetinliuos on sekoitettu yhtenäisesti pipetillä.
- Poista 10 µl koetinta testiä kohti ja siirrä se mikrosentrifugiputkeen. Palauta jäljelle jäänyt koetin nopeasti pakastimeen.
- Aseta koetin ja näyteobjektiivilasi esilämpimään 37 °C:n (+/- 1 °C) lämpölevylle 5 minuutiksi.
- Laita 10 µl koetinseosta solunäytteelle ja aseta peitelasi varoen paikalleen. Sulje kumiliuosliimalla ja anna liiman kuivua täysin.

#### Denaturaatio

- Denaturoi näyte ja koetin samanaikaisesti kuumentamalla objektiivilasia lämpölevylle 2 minuutin ajan 75 °C:n (+/- 1 °C) lämpötilaan.

#### Hybridisaatio

- Laita objektiivilasi yöksi kosteaan valonkestävään säiliöön 37 °C:n (+/- 1 °C) lämpötilaan.

#### Hybridisaation jälkeiset pesut

- Poista DAPI pakastimesta ja anna sen lämmetä huoneenlämpötilaan.
- Poista peitelasi ja kaikki liimajäljet huolellisesti.
- Upota objektiivilasi 0,4 x SSC-liuokseen (pH 7,0) 2 minuutiksi 72 °C:n (+/- 1 °C) lämpötilassa ravistamatta.
- Tyhjennä objektiivilasi ja upota se 30 sekunniksi 2 x SSC:tä ja 0,05 % Tween-20:tä sisältävään liuokseen huoneenlämpötilassa (pH 7,0) ravistamatta.
- Tyhjennä objektiivilasi ja laita kuhunkin näytteeseen 10 µl häipymistä ehkäisevää DAPIa.
- Peitä peitelasilla, poista mahdolliset kuplat ja anna värin kehittyä pimeässä 10 minuuttia.

18. Tarkastele fluoresenssimikroskoopilla (katso **Fuoresenssimikroskooppisuositus**).

**Toimenpidesuosituks**

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

**Tulosten tulkitseminen**

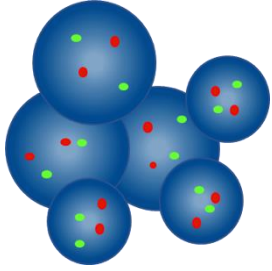
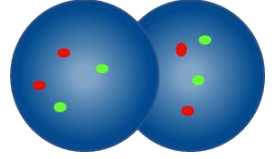
**Objektiivilasin laadun arviointi**

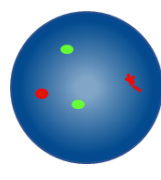
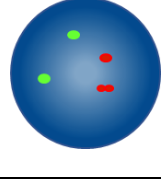
Objektiivilasia ei tarvitse analysoida, jos:

- yksittäisten suodatinten signaalit ovat liian heikkoja analysoitavaksi – jotta analyysia voidaan jatkaa, signaalien on näytävä kirkkaina, selkeinä ja helposti arvioitavina
- analyysia vaikeuttaa suuri määrä yhteen kasautuneita / päällekkäisiä soluja
- > 50 % soluista ei ole hybridisoituneita
- solujen välissä on liikaa fluoresoivia hiukkasia ja/tai fluoresoivaa utua, joka häiritsee signaaleita – optimaalisissa objektiivilaseissa taustan pitäisi näkyä tummana tai mustana ja puhtaana
- solun tumen rajoja ei voida erottaa, eivätkä ne ole eheitä.

**Analysointiohjeet**

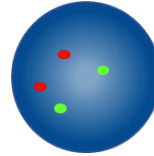
- Kahden analyytikon pitäisi analysoida ja tulkita jokainen näyte. Kaikki eriävyydet on annettava kolmannen analyytikon arvioitavaksi.
- Jokaisella analyytikolla on oltava sopiva pätevyys tunnustettujen kansallisten standardien mukaan.
- Jokaisen analyytikon pitäisi saada riippumattomasti 100 tumaa kustakin näytteestä. Ensimmäisen analyytikon pitäisi käynnistää analyysi objektiivilasin vasemmalta puolelta ja toisen analyytikon oikealta puolelta.
- Kunkin analyytikon on dokumentoitava tuloksiaan erillisillä arkeilla.
- Analysoi vain eheitä tumia, ei päällekkäisiä tai yhteen kasautuneita tumia tai sellaisia tumia, jotka ovat sytoplasmajätteen peitossa tai joissa on runsaasti autofluoresenssia.
- Vältä alueita, joilla on liiallista sytoplasmajätettä tai epäspesifistä hybridisaatiota.
- Signaalin intensiteetti saattaa vaihdella yksittäisenkin tumen kohdalla. Käytä tällaisissa tapauksissa yksittäisiä suodatimia ja/tai säädä fokustasoa.
- Suboptimaalisissa olosuhteissa signaalit saattavat näyttää hajanaisilta. Jos kaksi samanväristä signaalia koskettaa toisiaan, jos niiden välinen etäisyys on enintään yhtä suuri kuin kahden signaalin leveys tai jos kahta signaalia yhdistää heikko säie, katso ne yhdeksi signaaliksi.
- Mikäli on epäilystä siitä, voidaanko solu analysoida, älä analysoi sitä.

Analysointiohjeet	
	Älä laske – tumat ovat liian lähekkäin, jotta rajoja voisi määrittää
	Älä laske päällekkäisiä tumia – kummankin tumen kaikki alueet eivät ole näkyvissä

	Laske kahdeksi punaiseksi signaaliksi ja kahdeksi vihreäksi signaaliksi – toinen kahdesta punaisesta signaalista on hajanainen
	Laske kahdeksi punaiseksi signaaliksi ja kahdeksi vihreäksi signaaliksi – toisen punaisen signaalin rako on pienempi kuin kaksi koettimen leveyttä

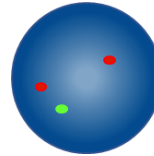
**Odotettavissa olevat tulokset**

Odotettavissa oleva normaali signaalikuvi

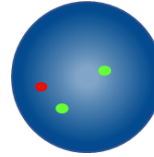


Tavallisessa solussa on odotettavissa kaksi punaista ja kaksi vihreää signaalia (2P2V).

Odotettavissa olevat epänormaalit signaalikuvit



ATM-deleetion sisältävässä solussa on odotettavissa kaksi punaista ja yksi vihreä signaali (2P1V).



TP53-deleetion sisältävässä solussa on odotettavissa yksi punainen ja kaksi vihreää signaalia (1P2V).

Muut signaalikuvit ovat mahdollisia aneuploidisissa/epätasapainoissa näytteissä.

**Tunnetut olennaiset häiriöt / häiritsevät aineet**

Ei tunnettuja olennaisia häiriöitä / häiritseviä aineita.

**Tunnettu ristireaktiivisuus**

Ei tunnettua ristireaktiivisuutta.

**Vakavista vaaratilanteista ilmoittaminen**

Potilaan / käyttäjän / kolmannen osapuolen, joka on Euroopan unionissa tai maassa, jossa on vastaava säädös (asetus (EU) 2017/746 *in vitro* -diagnostisista lääkinlääkinnällisistä laitteista), on ilmoitettava valmistajalle ja kansalliselle toimivaltaiselle viranomaiselle, mikäli tämän laitteen käytön aikana tai sen käytön seurauksena tapahtuu vakava vaaratilanne.

Muissa maissa tapahtuneista vakavista vaaratilanteista on ilmoitettava valmistajalle ja soveltuvin osin kansalliselle toimivaltaiselle viranomaiselle.

Valmistajan yhteystiedot vaaratilanteissa: [vigilance@ogt.com](mailto:vigilance@ogt.com)

Luettelo vaaratilanteita käsittelevien EU:n kansallisten toimivaltaisten viranomaisten yhteystiedoista on seuraavassa osoitteessa:

[https://health.ec.europa.eu/medical-devices-sector/new-regulations/contacts\\_en](https://health.ec.europa.eu/medical-devices-sector/new-regulations/contacts_en)

**Erityiset suorituskykyominaisuudet**

**Analyttinen spesifisyys**

Analyttinen spesifisyys on niiden signaalien prosenttiosuus, jotka hybridisoidaan oikeaan lokukseen eikä muihin sijainteihin. Neljä (4) kromosomin lokusta analysoitiin jokaisessa 20 metafaasisolussa jokaisesta viidestä (5) karyotyypiltään normaalista miehen (3:1 metanoli/etikahappi) fiksoidusta ääreisveren solunäytteestä, jolloin saatiin 400 tietopistettä. Jokaisen hybridisoituneen koettimen paikka kartoitettiin, ja oikeaan lokukseen hybridisoituneiden metafaasikromosomien FISH-signaalien lukumäärä kirjattiin.

Kunkin sarjan koettimen analyttinen spesifisyys laskettiin sellaisten metafaasikromosomien FISH-signaalien määräksi, jotka hybridisoituvat oikeaan lokukseen, jaettuna hybridisoituneiden metafaasikromosomien FISH-signaalien

kokonaismäärällä. Tulos kerrottiin 100:lla, ilmaistiin prosenttilukuna ja sille määritettiin 95 prosentin luottamusväli.

**Taulukko 1. P53 (TP53)/ATM Combination Deletion Probe -koettimen analyttinen spesifisyys**

Kohde	Hybridisoituneiden metafaasikromosomien lukumäärä	Oikein hybridisoituneiden lokusten lukumäärä	Analyttinen spesifisyys	95 %: n luottamusväli
17p13	200	200	100 %	98,12 % – 100 %
11q22.3	200	200	100 %	98,12 % – 100 %

#### Analyttinen herkkyys

Analyttinen herkkyys on niiden tulosten laskennassa käytettävien interfaasisolujen prosenttiosuus, joiden odotettavissa oleva signaalikuvio on normaali. Vähintään 200 interfaasisolua analysoidaan jokaisesta 25 fiksoidusta luuydinsolususpensiosta, ja ne katsottiin negatiivisiksi TP53- tai ATM-delektion osalta, jolloin saatiin vähintään 5 000 tumaa näytetyyppiä kohden. Herkkyystiedot analysoidaan niiden solujen prosenttimäärän perusteella, jotka osoittivat normaalia odotettavissa olevaa signaalikuvioita, ja tulos ilmaistiin prosenttiosuudella sekä 95 %:n luottamusvälillä.

**Taulukko 2. P53 (TP53)/ATM Combination Deletion Probe -koettimen analyttinen herkkyys**

Näytteen tyyppi	Herkkyuden kriteerit	Herkkyuden tulos
Luuydin	> 95 %	96,32 % (95,59–97,05 %)

#### Normaalien raja-arvojen luokittelu

Normaaliksi raja-arvoksi määritettiin niiden solujen prosenttiosuus, joissa esiintyi väärä positiivinen signaalikuvio, jolloin henkilöä pidettäisiin normaalina eikä kliinisen diagnoosin mukaisena. Vähintään 200 interfaasisolua analysoidaan jokaisesta 25 fiksoidusta luuydinsolususpensiosta, ja ne katsottiin negatiivisiksi TP53- tai ATM-delektion osalta, jolloin saatiin vähintään 5 000 tumaa näytetyyppiä kohden.

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

**Taulukko 3. P53 (TP53)/ATM Combination Deletion Probe -koettimen normaalien raja-arvojen luokittelu**

Näytteen tyyppi	Signaalikuvio	Raja-arvojen tulos
Luuydin	2P1V	3,78 %
	1P2V	8,97 %

Laboratorioiden on tarkistettava raja-arvot käyttämällä omia tietojään<sup>7,8</sup>.

#### Tarkkuus

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

Tämän tuotteen tarkkuus arvioitiin kolmella (3) näytteellä: yksi normaali luuydinnäyte (FISH-signaalien negatiiviseksi osoittama sekä TP53- että ATM-delektioiden osalta ennen tutkimuksessa käyttämistä), yksi heikosti positiivinen 2P1V ATM-delektioluuydinnäyte ja yksi heikosti positiivinen 1P2V TP53-delektioluuydinnäyte. Heikosti positiiviset luuydinnäytteet valmistettiin käyttämällä negatiivisen luuydinnäytteen osuutta ja lisäämällä siihen tunnettuja positiivista luuydinnäytettä, jotta saatiin heikosti positiivisia näytteitä, joiden pituus on 2–4x raja-arvo ja joita käytettiin määritetyn raja-arvon haastamiseen.

Päivien välisen ja päivän sisäisen tarkkuuden määrittämiseksi näytteet arvioitiin kymmenen (10) ei-peräkkäisen päivän ajalta. Erien välisen tarkkuuden määrittämiseksi kolme (3) tuote-erää arvioitiin kolmesta (3) saman näytteen replikaatista. Tulokset esitettiin yleisenä yhtäpitävyytenä ennakkoidun negatiivisen luokan kanssa (negatiivisten näytteiden osalta).

**Taulukko 4. P53 (TP53)/ATM Combination Deletion Probe -koettimen uusittavuus ja tarkkuus**

Muuttuja	Näytteen tyyppi	Yhtäpitävyys
Päivän sisäinen (näytteestä toiseen) ja päivien välinen (päivästä toiseen) uusittavuus	Luuydin, negatiivinen	100 %
	Luuydin, heikosti positiivinen 2P1V (ATM-deleetio)	96,7 %
	Luuydin, heikosti positiivinen 1P2V (TP53-deleetio)	100 %
Erien välinen uusittavuus	Luuydin, negatiivinen	100 %
	Luuydin, heikosti positiivinen 2P1V (ATM-deleetio)	88,9 %
	Luuydin, heikosti positiivinen 1P2V (TP53-deleetio)	100 %

#### Kliininen suorituskyky

Sen määrittämiseksi, havaitseeko tuote aiottuja deleetioita, kliininen suorituskyky määritettiin suorittamalla yksi (1) tutkimus edustaville otoksille tuotteen aiottu populaatiosta: Carnoy'n liuokseen (3:1 metanoli/etikahappo) fiksoiduille, hematologisesti johdetuille solususpensioille potilailta, joilla on epäilty tai vahvistettu krooninen lymfaattinen leukemia (CLL). Tutkimuksessa otoskoko oli kolmekymmentä (30) näytettä, ja kohdepopulaatio oli yksitoista (11) positiivista ja yhdeksätoista (19) negatiivista ATM-delektionäytettä ja yksitoista (11) positiivista ja yhdeksätoista (19) negatiivista TP53-delektionäytettä. Kaikki näytteet ovat tunnistamattomia, ja tuloksia verrattiin näytteen tunnettuun tilaan. Koetin tunnisti oikein näytteiden tilan kaikissa tapauksissa.

Näiden testien tulokset analysoidiin, jotta saatiin kliinisen herkkyyden, kliinisen spesifisyyden ja väärin positiivisten osuuden (FPR) arvot positiivisille signaaleille, käyttämällä yksidimensionaalista lähestymistapaa.

**Taulukko 5. P53 (TP53)/ATM Combination Deletion Probe -koettimen ATM -delektion kliininen suorituskyky**

Muuttuja	Tulos
Kliininen herkkyys (oikeiden positiivisten osuus, TPR)	99,93 %
Kliininen spesifisyys (oikeiden negatiivisten osuus, TNR)	99,99 %
Väärin positiivisten osuus (FPR) = 1 – spesifisyys	0,01 %

**Taulukko 6. P53 (TP53)/ATM Combination Deletion Probe -koettimen TP53-delektion kliininen suorituskyky**

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

#### Yhteenveto turvallisuudesta ja suorituskyvystä (SSP)

SSP tulee yleisön saataville eurooppalaisen lääkinnällisten laitteiden tietokannan (Eudamed) kautta, mistä se on haettavissa Basic UDI-DI -tunnisteella. Eudamedin URL-osoite: <https://ec.europa.eu/tools/eudamed> Basic UDI-DI: 50558449LPH052JJ

Jos Eudamed ei ole täysin toiminnallinen, SSP saatetaan yleisön saataville pyynnöstä sähköpostitse osoitteeseen [SSP@ogt.com](mailto:SSP@ogt.com).

#### Lisätietoja

Tuotteita koskevia lisätietoja on saatavilla ottamalla yhteyttä CytoCell-yhtiön teknisen tuen osastoon.

Puh.: +44 (0)1223 294048

Sähköposti: [techsupport@cytozell.com](mailto:techsupport@cytozell.com)













Verkkosivut: [www.ogt.com](http://www.ogt.com)

#### Viitteet

- 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.

#### Symbolisanasto

EN ISO 15223-1:2021 – ”Lääkinnälliset laitteet – Valmistajan toimittamissa tiedoissa käytettävät symbolit. Osa 1: Yleiset vaatimukset” (© International Organization for Standardization)		
Symboli	Nimike	Viitenumero(t)
	fi: Valmistaja	5.1.1
	fi: Valtuutettu edustaja Euroopan yhteisön / Euroopan unionin alueella	5.1.2

	fi: Käytön eräpäivä	5.1.4
	fi: Eräkoodi	5.1.5
	fi: Kuvastonumero	5.1.6
	fi: Pidettävä poissa auringonvalosta	5.3.2
	fi: Lämpötilaraja	5.3.7
	fi: Tutustu käyttöohjeisiin	5.4.3
 <a href="http://ogt.com/FU">ogt.com/FU</a>	fi: Tutustu sähköisiin käyttöohjeisiin	5.4.3
	fi: Huomio	5.4.4
	fi: <i>In vitro</i> -diagnostinen lääkinällinen laite	5.5.1
	fi: Riittävä sisältö <n> testiin	5.5.5
	fi: Yksilöllinen laitetunniste	5.7.10
<b>IVD-reagensseja ja -osia koskevat EDMA-symbolit, lokakuun 2009 versio</b>		
<b>Symboli</b>	<b>Nimike</b>	<b>Viitenumero(t)</b>
	fi: Sisältö (tai sisältää)	–

#### Patentit ja tavaramerkit

CytoCell on CytoCell Limited -yhtiön rekisteröity tavaramerkki.



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

Puh.: +44 (0)1223 294048  
Faksi: +44 (0)1223 294986  
Sähköposti: [probes@cytoCell.com](mailto:probes@cytoCell.com)  
Verkkosivut: [www.ogt.com](http://www.ogt.com)



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

Puh.: +49 40 527260  
Verkkosivut: [www.sysmex-europe.com](http://www.sysmex-europe.com)

#### Käyttöohjeen versiohistoria

V001 2024-01-08: Uusi käyttöohje asetuksen (EU) 2017/746 vuoksi.