



A Sysmex Group Company



Käyttöohje

REF: LPH 068-S / LPH 068

D13S319 Plus Deletion Probe -koetin



VAIN AMMATTIKÄYTTÖÖN



www.cytocell.com

Lisätieto ja ja muita kieliä saatavilla osoitteesta www.ogt.com

Rajoitukset

Tämän laitteen tarkoitus on havaita genomien puutteita, jotka ovat suurempia kuin tämän koetinsetin punaisen kloonin kattama alue, johon sisältyy D13S319-alue. Tämä tuote ei ehkä havaitse kyseisen alueen ulkopuolisia genomien puutteita tai tämän alueen osittaisia puutteita.

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

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

FISH-tulosten raportoinnin ja tulkinnan on oltava yhdenmukainen ammattimaisten käytäntöstandardien kanssa, ja niissä on otettava huomioon muut kliiniset ja diagnostiset tiedot. Sarja on tarkoitettu muiden diagnostisten laboratorioiden apuvälineeksi, eikä hoitotoimia saa käynnistää yksinomaan FISH-tuloksen perusteella.

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

Tätä sarjaa ei ole validoitu mainitusta aiotusta käyttötarkoituksesta poikkeavaan käyttöön.

Aiottu käyttötarkoitus

CytoCell D13S319 Plus Deletion Probe -koetin on kvalitatiivinen, ei-automatisoitu FISH (fluorescence *in situ* hybridisation) -testi, jota käytetään kromosomien deleetioiden havaitsemiseen kromosomin 13 alueella 13q14.2-q14.3 Carnoyn liuokseen (3:1 metanoli/etikkahappo) fiksoiduille, hematologisesti johdetuille solususpensioille potilailta, joilla on vahvistettu tai epäilty krooninen lymfaattinen leukemia (CLL) tai multipeli myelooma (MM).

Käyttöaiheet

Tämä tuote on suunniteltu käytettäväksi muiden kliinisten ja histopatologisten testien lisäksi vakiintuneissa diagnostiikan ja kliinisen hoidon hoitopoluissa, joissa D13S319-deleetion tilan tietämys olisi tärkeää kliiniselle hoidolle.

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-raita-analyysin apuvälineenä. Tätä tekniikkaa voidaan nyt käyttää olennaisena tutkimustyökaluna raskauden aikaiseen, hematologiseen ja kiinteiden tuumorien kromosomianalyysiin. Kohde-DNA on fiksaation ja denaturaation jälkeen saatavilla palautumiseksi samalla tavoin denaturoituu, fluoresenssimerkittyyn DNA-koettiin, jolla on tydentävä sekvenssi. Hybridisaation jälkeensitomaton ja muu kuin spesifisesti sidottu DNA-koetin poistetaan, ja DNA vastavärijätään visualisointia varten. Sen jälkeen hybridisoitu koetin voidaan visualisoida fluoresenssimikroskopian avulla kohdemateriaalissa.

Koettimen tiedot

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

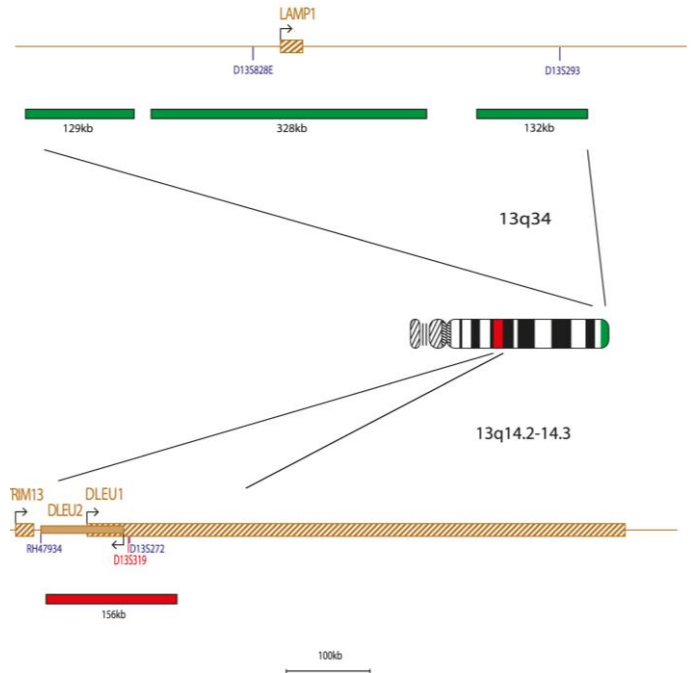
Kromosomin 13q poikkeamia ilmenee 16–40 prosentissa multipelin myelooman (MM) tapauksista. Useimmiten kyseessä on täysi monosomia 13 (85 %), kun taas lopuissa 15 prosentissa esiintyy 13q:n deleetio^{1,2,3}. Multipellia myeloomaa sairastavilla potilailla tehty tapaustutkimus rajasi kriittisen deleetioalueen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

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

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

Koettimen tekniset tiedot

D13S319, 13q14.2-14.3, punainen
13qter, 13q34, vihreä



Punaisella leimattu D13S319-koetin kattaa 156 kb:n alueen, johon sisältyy koko DLEU1, suurin osa DLEU2-geeneistä sekä D13S319-, D13S272- ja RH47934-markkerit. Vihreällä leimattu 13qter-subtelomeerikohtainen koetin mahdollistaa kromosomin 13 tunnistamisen ja toimii kontrollikoettimena.

Toimitettavat materiaalit

Koetin: 50 µl pulloa kohti (5 testiä) tai 100 µl pulloa kohti (10 testiä)
Koettimet toimitetaan ennalta sekoitettuna hybridisaatioliuokseen (formamidi, dekstraanisulfaatti, suolaliuos-natriumsitraatti (SSC)), ja ne ovat valmiita käytettäväksi.

Vastaväri:

150 µl pulloa kohti (15 testiä)
Vastaväri on DAPI häpymistä ehkäisevä (ES: 0,125 µg/ml DAPI (4,6-diamidino-2-fenyylindoli)).

Varoitukset ja varoimet

1. Tarkoitettu *in vitro*-diagnostiikkakäyttöön. Vain ammattikäyttöön.
2. Käytä käsinettä käsitellessäsi DNA-koettimia ja DAPI-vastaväriä.
3. Anturiseokset sisältävät formamidiä, joka on teratogeeni: älä hengitä höyryä sisään tai päästä aineita kosketuksiin ihon kanssa. Käsiteltävä varen: käytä käsinettä ja laboratoriotaakkia.
4. DAPI on potentiaalinen karsinogeeni. Käsiteltävä varen: käytä käsinettä ja laboratoriotaakkia.
5. Hävitä kaikki vaaralliset materiaalit laitoksesi vaarallisten jätteiden hävittämistä koskevien ohjeiden mukaan.
6. Käyttäjien on pystyttävä erottamaan toisistaan punainen, sininen ja vihreä väri.

DS219/CE-fi v007.00/2020-12-01 (H079 v4)

Sivu 1 / 4

- Mikäli hahmoteltua protokollaa ei noudateta ja sen mukaisia reagensseja ei käytetä, se saattaa vaikuttaa suorituskykyyn ja johtaa virheellisiin positiivisiin/negatiivisiin tuloksiin.
- Koetinta ei saa laimentaa tai sekoittaa muiden anturien kanssa.
- Mikäli 10 µl:n koetinta ei käytetä protokollan esidenaturaatiivaiheessa, se saattaa vaikuttaa suorituskykyyn ja johtaa virheellisiin positiivisiin/negatiivisiin tuloksiin.

Säilytys ja käsittely

Sarjaa on säilytettävä pakastimessa $-25\text{ }^{\circ}\text{C}$... $-15\text{ }^{\circ}\text{C}$:n lämpötilassa sarjan etiketeissä ilmoitettuun eräpäivään saakka. Koetinta ja vastaväripuljoja on säilytettävä pimeässä.



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

Laitteisto ja materiaalit Tarvittavat mutta pakkaukseen sisällyttömät

Kalibroituja laitteistoja on käytettävä:

- Lämpölevy (kiinteällä levyllä ja tarkalla lämpötilan hallinnalla $80\text{ }^{\circ}\text{C}$:n lämpötilaan saakka)
- Kalibroidut tilavuudeltaan vaihtelevat mikropipetit ja kärjet, 1–200 µl
- Vesikylpy tarkalla lämpötilan hallinnalla $37\text{ }^{\circ}\text{C}$:n ja $72\text{ }^{\circ}\text{C}$:n lämpötilassa
- Mikrosentrifugiletkut (0,5 ml)
- Fluoresenssimikroskooppi (katso Fluoresenssimikroskooppisuositus-osio)
- Vaihekontrastimikroskooppi
- Coplin-purkit puhdasta muovia, keramiikkaa tai lämmönkestävää lasia
- Pihdit
- Kalibroitu pH-mittari (tai pH-indikaattoriuskat, joilla voidaan mitata 6,5–8,0:n pH-arvo)
- Kostutettu säiliö
- Fluoresenssiluokan mikroskooppilinnin immersioöljy
- Työpöytäsentrifugi
- Mikroskooppibjekttilasi
- 24 x24 mm:n peitelasit
- Ajastin
- $37\text{ }^{\circ}\text{C}$:n inkubaattori
- Kumiliuosliima
- Pyörresekoitin
- Mittasylinterit
- Magneettinen sekoitin
- Kalibroitu lämpömittari

Valinnainen laitteisto, ei sisälly pakkaukseen

- Sytogeneettinen kuivauskammio

Tarvittavat reagenssit, jotka eivät sisälly pakkaukseen

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

Fluoresenssimikroskooppisuositus

Käytä 100 watin elohopealampua tai vastaavaa ja öljyimmersion suunnitelman 60/63x- tai 100x-apokromaattiobjektiveja parhaaseen mahdolliseen visualisointiin. Tässä koetinsarjassa käytettävät loisteaineet virittyvät ja säteilevät seuraavilla aaltopituuksilla:

Loisteaine	Viritys _{Smaks} [nm]	Emissio _{Smaks} [nm]
Vihreä	495	521
Punainen	596	615

Varmista, että mikroskooppiin on sovitettu asianmukaiset viritys- ja emissiosuodattimet, jotka kattavat yllä luetellut aallonpituudet. Käytä DAPI-vihreän spektrin/punaisen spektrin kolmoiskaistanpäästösuodatinta tai vihreän spektrin/punaisen spektrin kaksiskaistanpäästösuodatinta vihreän ja punaisen loisteaineen optimaaliseen samanaikaiseen visualisointiin.

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

Näytteen valmistelu

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

Liuksen valmistus

Etanoli-liuokset

Laimenna 100 % etanoli akkuviedellä seuraavissa suhteissa ja sekoita huolellisesti:

- 70 % etanolia – 7 osaa 100 % etanolia ja 3 osaa akkuvettä
- 85 % etanolia – 8,5 osaa 100 % etanolia ja 1,5 osaa akkuvettä

Säilytä liuosta enintään 6 kuukautta huoneenlämpötilassa ilmatiiviissä säiliössä.

2 x SSC-liuos

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

0,4 x SSC-liuos

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

2 x SSC, 0,05 % Tween-20-liuos

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

FISH-protokolla

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

Objektivilasin valmistelu

- Laita pisara solunäytettä mikroskooppibjekttilasille. Anna kuivua. (Vaihtoehtoisesti, jos käytetään sytogeneettistä kuivauskammioita: mikroskooppibjekttilasille on asetettava pisara näytettä sytogeneettisen kuivauskammion avulla. Kammioita on käytettävä noin $25\text{ }^{\circ}\text{C}$:n lämpötilassa ja 50 %:n kosteudessa, jotta solunäytepisara voidaan asettaa optimaalisesti lasille. Mikäli sytogeneettistä kuivauskammioita ei ole saatavilla, käytä vaihtoehtoisesti vetokaappia).
- Upota objektivilasi 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 lämmentä 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 näyteobjektivilasi esilämpimään $37\text{ }^{\circ}\text{C}$:n ($\pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$) lämpölevylle 5 minuutiksi.
- Laita 10 µl koetinseosta solunäytteelle ja aseta peitelasi varen paikalleen. Sulje kumiliuosliimalla ja anna liiman kuivua täysin.

Denaturaatio

- Denaturoi näyte ja koetin samanaikaisesti kuumentamalla objektivilasia lämpölevyllä 2 minuutin ajan $75\text{ }^{\circ}\text{C}$:n ($\pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$) lämpötilaan.

Hybridisaatio

- Laita objektivilasi yöksi kosteaan valonkestävään säiliöön $37\text{ }^{\circ}\text{C}$:n ($\pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$) lämpötilaan.

Hybridisaation jälkeiset pesut

- Poista DAPI pakastimesta ja anna sen lämmentä huoneenlämpötilaan.
- Poista peitelasi ja kaikki liimajäljet huolellisesti.
- Upota objektivilasi 0,4 x SSC-liuokseen (pH 7,0) 2 minuutiksi $72\text{ }^{\circ}\text{C}$:n ($\pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$) lämpötilassa ravistamatta.
- Tyhjennä objektivilasi ja upota se 30 sekunniksi 2 x SSC-liuokseen ja 0,05 % Tween-20-liuokseen huoneenlämpötilassa (pH 7,0) ravistamatta.
- Tyhjennä objektivilasi ja laita kuhunkin näytteeseen 10 µl häilymistä ehkäisevää DAPLa.
- Peitä peitelasilla, poista mahdolliset kuplat ja anna värin kehittyä pimeässä 10 minuuttia.
- Tarkastele fluoresenssimikroskoopilla (Katso Fluoresenssimikroskooppisuositus).

Valmiiden objektivilasien vakaus

Valmiita objektivilaseja voidaan analysoida enintään 1 kuukausi, mikäli niitä säilytetään pimeässä huoneenlämpötilassa tai sitä matalammassa lämpötilassa.

Toimenpidesuosituks

- Objektivilasian sintraaminen tai ikäännyttäminen saattaa heikentää signaalien fluoresenssia
- Muiden kuin Cytocell Ltd -yhtiön toimittamien tai suosittelemien reagenssien käyttö saattaa vaikuttaa haitallisesti hybridisaatio-dosuhteisiin.
- Käytä liuosten, vesikylpyjen ja inkubaattorien lämpötilojen mittaukseen kalibroituja lämpömittaria, sillä nämä lämpötilat ovat ratkaisevan tärkeitä tuotteen optimaalisen suorituskykyyn kannalta.
- Pesupitoisuudet, pH-arvo ja lämpötilat ovat tärkeitä, sillä liiallinen löyhys saattaa johtaa koettimen epäspesifiseen sitoutumiseen ja liiallinen ankaruus signaalin puuttumiseen.

- Epätäydellinen denaturaatio saattaa johtaa signaalin puuttumiseen ja liiallinen denaturaatio saattaa myös johtaa epäspesifiseen sitoutumiseen.
- Liiallinen hybridisaatio saattaa johtaa ylimääräisiin tai odottamattomiin signaaleihin.
- Käyttäjien on optimoitava omien näytteidensä protokolla ennen testin käyttöä.
- Suboptimaaliset olosuhteet saattavat johtaa epäspesifiseen sitoutumiseen, jotka saatetaan tulkita koetinsignaaleiksi.

Tulosten tulkittaminen

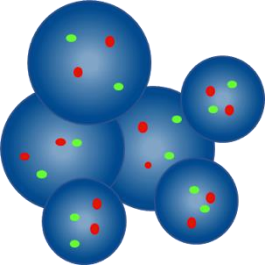
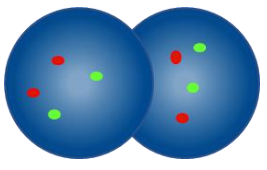
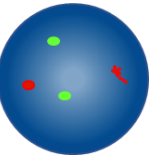
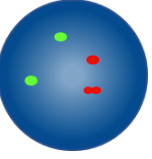
Objektiivilasin laadun arviointi

Objektiivilasia ei tarvitse analysoida, jos:

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

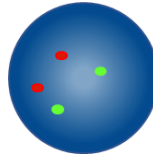
Analysointiohjeet

- Kahden analytiikon pitäisi analysoida ja tulkita jokainen näyte. Kaikki eriävyydet on annettava kolmannen analytiikon arvioitavaksi
- Jokaisella analytiikolla on oltava sopiva pätevyys tunnustettujen kansallisten standardien mukaan.
- Jokaisen analytiikon pitäisi saada riippumattomasti 100 tumaa kustakin näytteestä. Ensimmäisen analytiikon pitäisi käynnistää analyysi objektiivilasin vasemmalta puolelta ja toisen analytiikon oikealta puolelta
- Kunkin analytiikon 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 tuman kohdalla. Käytä tällaisissa tapauksissa yksittäisiä suodatimia ja/tai säädä fokustasoa.
- Suboptimaalisissa olosuhteissa signaalit saattavat näyttää hajanaisilta. Jos kaksi samantyyppistä 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 lähellä, jotta rajoja voisi määrittää
	Älä laske päällekkäisiä tumia – kummankin tuman 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 signaali-levyettä

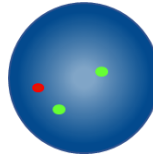
Odottavissa olevat tulokset

Odottavissa oleva normaali signaalikuvio

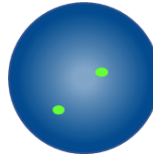


Tavallisessa solussa on odottavissa kaksi punaista ja kaksi vihreää signaalia (2P, 2V).

Odottavissa olevat epänormaalit signaalikuviot



Jos solussa on D13S319-lokukseen hemisyygootinen deleetio, odottavissa oleva signaalikuvio on yksi punainen ja kaksi vihreää signaalia (1P, 2V).



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

Muut signaalikuviot ovat mahdollisia aneuploidisissa / epätasapainoisissa näytteissä.

Tunnettu ristireaktiivisuus

Ei tunnettua ristireaktiivisuutta.

Haittatapahtumista raportointi

Jos uskot, että tässä laitteessa on ilmennyt toimintahäiriö tai että sen suorituskykyominaisuuksissa on tapahtunut huononemista, joka on saattanut myötävaikuttaa haittatapahtumaan (esim. viivästynyt tai virheellinen diagnoosi, viivästynyt tai epäasianmukainen hoito), tästä on ilmoitettava välittömästi valmistajalle (**sähköposti: vigilance@oqt.com**).

Soveltuvien osien tapahtumasta on ilmoitettava myös kansallisille toimivaltaisille viranomaisille. Luettelo vaaratilanteiden yhteystiedoista on seuraavassa osoitteessa: <http://ec.europa.eu/growth/sectors/medical-devices/contacts/>.

Erityiset suorituskykyominaisuudet

Analyttinen spesifisyys

Analyttinen spesifisyys on prosenttiosuus signaaleista, jotka hybridisoidaan oikeaan lokukseen eikä muihin sijainteihin. Analyttinen spesifisyys määritettiin analysoimalla yhteensä 200 kohdelokusta. Analyttinen spesifisyys laskettiin sellaisten FISH-signaalien määräksi, jotka hybridisoituivat oikeaan lokukseen jaettuna hybridisoituneiden FISH-signaalien kokonaismäärällä.

Taulukko 1. D13S319 Plus Deletion Probe -koettimen analyttinen spesifisyys

Koetin	Kohdelokus	Oikeaan lokukseen hybridisoituneiden signaalien määrä	Kaikkien hybridisoituneiden signaalien kokonaismäärä	Spesifisyys (%)
D13S319 punainen	13q14.2	200	200	100
13qter vihreä	13qter, 13q34	200	200	100

Analyttinen herkkyys

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

Taulukko 2. D13S319 Plus Deletion Probe -koettimen analyttinen herkkyys

Sellaisten solujen määrä, joilla on odottavissa olevat signaalikuviot	Sellaisten solujen määrä, joilla on tulosten laskennassa käytettävät signaalit	Herkkyys (%)	95 %:n luottamusväli
463	500	92,6	0,7

Normaalien raja-arvojen luokittelu

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

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

Taulukko 3. D13S319 Plus Deletion Probe -koettimen normaalien raja-arvojen luokittelu

Epänormaali signaalikuvio	Youden-indeksi	Normaali raja-arvo (%)
1P, 2V tai 0P, 2V	0,99	7

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

Tarkkuus ja uusittavuus

Tarkkuus on testin luonnollisen vaihtelun mitta, kun testi toistetaan useita kertoja samoissa olosuhteissa. Tämä arvioitiin analysoidulla saman eränumeron koetinta, jota testattiin samalla näytteellä samoissa olosuhteissa ja samana päivänä.

Uusittavuus on testin vaihtelevuuden mitta, ja se on määritetty vaihtelevuutena näytteestä toiseen, päivästä toiseen ja erästä toiseen. Uusittavuutta päivästä toiseen arvioitiin analysoidulla samat näytteet kolmena eri päivänä. Uusittavuutta erästä toiseen arvioitiin analysoidulla samat näytteet käyttämällä kolmen eri eränumeron koettimia samana päivänä. Uusittavuutta näytteestä toiseen arvioitiin analysoidulla näytteen kolmea replikaatiota samana päivänä. Kunkin näytteen kohdalla tallennettiin 100 interfaasisolua ja laskettiin sellaisten solujen prosenttiosuus, joilla oli odotettavissa oleva signaalikuvio.

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

Taulukko 4. D13S319 Plus Deletion Probe -koettimen uusittavuus ja tarkkuus

Muuttuja	Vakiopoitkeama (STDEV)
Tarkkuus	0,77
Näytteestä toiseen	0,89
Päivästä toiseen	2,27
Erästä toiseen	2,07
Kokonaispoitkeama	2,01

Kliininen suorituskyky

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

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

Taulukko 5. D13S319 Plus Deletion Probe -koettimen kliininen suorituskyky

Muuttuja	Tulos
Kliininen herkkyys (oikea positiivinen aste, TPR)	99,7%
Kliininen spesifisyys (oikea negatiivinen aste, TNR)	100%
Väärä positiivinen aste (FPR) = 1 – spesifisyys	0%

Lisätietoja

Tuotteita koskevia lisätietoja on saatavilla ottamalla yhteyttä CytoCellin teknisen tuen osastoon.

Puh.: +44 (0)1223 294048

Sähköposti: techsupport@cytozell.com

Verkkosivut: www.ogt.com

Viitteet

1. Bullrich F *et al.*, Cancer Res 2001;61:6640-8
2. Zojer *et al.*, Blood 2000;95(6):1925-1930
3. Sawyer, Cancer Genetics 2011;204:3-12
4. Shaughnessy J *et al.*, Blood 2000;96:1505-11
5. Fonseca *et al.*, Leukemia 2009;23:2210-2221
6. Juliusson G *et al.*, N Eng J Med 1990;323:720-4
7. Puiggros *et al.*, Biomed Res Int 2014;1-13
8. Kasar *et al.*, Nature Communications 2015;6:1-12
9. Hammarlund M *et al.*, FEBS Letters 2004;556:75-80
10. Van Dyke DL *et al.*, Br J Haematology 2009;148:544-50
11. Rossi *et al.*, Blood 2013;121(8):1403-1412
12. Liu Y *et al.*, Oncogene 1997;15:2463-73
13. Wolf S *et al.*, Hum Mol Genet 2001;10:1275-85
14. Liu Y *et al.*, Blood 1995;86:1911-5
15. Bullrich F *et al.*, Blood 1996;88(8):3109-15
16. Arsham, MS., Barch, MJ. and Lawce HJ. (eds.) (2017) *The AGT Cytogenetics Laboratory Manual*. New Jersey: John Wiley & Sons Inc.

17. 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.
18. 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.

Symboliopas

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

Patentit ja tavaramerkit

CytoCell on Cytozell Ltd:n rekisteröity tavaramerkki.



Cytozell Ltd.

Oxford Gene Technology,
418 Cambridge Science Park,
Milton Road,
Cambridge, CB4 0PZ, UK
Puh.: +44 (0) 1223 294048
F: +44 (0) 1223 294986
Sähköposti: probes@cytozell.com
Verkkosivut: www.ogt.com