



A Sysmex Group Company



## Lietošanas instrukcija

REF: LPH 016-S/LPH 016

### Zonde MYB Deletion Probe



TIKAI PROFESIONĀLAM LIETOJUMAM



www.cytoCELL.com

Papildinformācija un informācija citās valodās ir pieejama vietnē  
www.ogt.com

#### Ierobežojumi

Šī ierīce ir paredzēta tādu genomisko zudumu noteikšanai, kuru lielums pārsniedz reģionu, ko nosedz sarkanais klons zonžu komplektā, kurā ietilpst reģions *MYB*. Izmantojot šo produktu, var netikt noteikti genomiskie zudumi ārpus šī reģiona vai daļēji šī reģiona zudumi.

Šis tests nav paredzēts: izmantošanai autonoma diagnostikas līdzekļa statusā, prenatalālai testēšanai, konkrētu populāciju skrīningam, testēšanai ārpus laboratorijas un paštestēšanai. Šis produkts ir paredzēts tikai profesionālai lietošanai laboratorijās; visu rezultātu interpretēšana jāveic atbilstoši kvalificētiem darbiniekiem, ņemot vērā citu attiecināmo testu rezultātus.

Šis produkts nav apstiprināts lietošanai tādu tipu paraugiem vai slimbām, kas nav norādīti informācijā par paredzēto lietojumu.

Ziņošana par luminiscētās in situ hibridizācijas rezultātiem un to interpretēšana ir jāveic atbilstoši profesionālajiem prakses standartiem un ir jāņem vērā cita klīniskā un diagnostikas informācija. Šis komplekts ir paredzēts kā citu diagnostisko laboratorijas testu palīg līdzeklis, un lēmumus par terapiju nedrīkst pieņemt, vadoties tikai pēc luminiscētās in situ hibridizācijas rezultātiem.

Neievērojot attiecīgo protokolu, var tikt ietekmēta veikspēja un iegūti kļūdaini pozitīvi vai kļūdaini negatīvi rezultāti.

Šis komplekts nav apstiprināts izmantošanai nolūkiem, kas neatbilst norādītajam paredzētajam lietojumam.

#### Paredzētais lietojums

Zonde CytoCell MYB Deletion Probe ir kvalitatīvs, neautomatizēts luminiscētās in situ hibridizācijas (fluorescence in situ hybridisation — FISH) tests, kas paredzēts hromosomālo delēciju noteikšanai 6. hromosomas reģionā 6q23.3 Karnuā šķīdumā (3:1 metanols/ētiķskābe) fiksētās hematoloģiskās šūnās šūnu suspensijās no pacientiem, kuriem ir konstatēta akūta limfoblastiskā leikēmija (ALL), hroniska limfocitiskā leikēmija (HLL) vai nehodžkina limfoma (NHL) vai arī pastāv aizdomas par tās esamību.

#### Indikācijas

Šis produkts ir paredzēts kā citu klīnisko un histopatoloģisko testu papildinājums atzītās diagnostikas un klīniskās aprūpes metodēs, kad informācija par *MYB* delēcijas statusu ir svarīga klīniskajai pārvaldībai.

#### Testa principi

Luminiscētā in situ hibridizācija (Fluorescence in situ hybridisation — FISH) ir metode, kas ļauj noteikt DNS sekvenču metafāžu hromosomās vai interfāzes kodolos fiksētiem citogēniskiem paraugiem. Šajā metodē tiek izmantotas DNS zondes, kas hibridizējas ar vesellām 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, luminiscējošu marķētu DNS zondi, kurai ir papildu sekvenču. Pēc hibridizācijas nesaistītā un nespecifiski saistītā DNA zonde tiek aizvākta un DNS tiek kontrastēta vizualizācijai. Pēc tam, izmantojot luminiscences mikroskopiju, hibridizēto zondi var vizualizēt mērķa materiālā.

#### Informācija par zondi

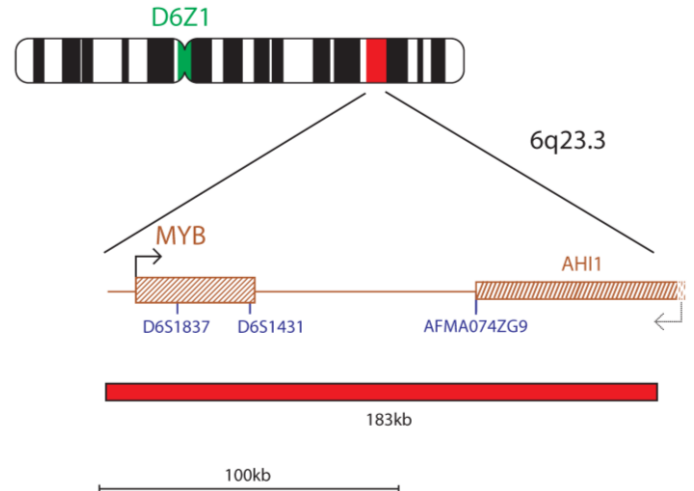
MYB (*MYB protoonkogēns, transkripcijas faktors*), kas atrodas reģionā 6q23.3, ir hematopoēzei būtiski svarīgs transkripcijas faktors<sup>1</sup>.

6. hromosomas garais plecs (6q) bieži ir iesaistīts cilvēka vēža hromosomālajā anormalitātēs, tostarp ļaundabīgos hematoloģiskajos jaunveidojumos<sup>1</sup>. Hromosomas 6q delēcijas ir konstatēamas akūtas limfoblastiskās leikēmijas (ALL), hroniskas limfocitiskās leikēmijas (HLL) un augstas pakāpes no dāļas un ekstranodālās B šūnu limfomas gadījumos, kā arī krūts karcinomas, melanomas, olnīcu karcinomas un nieru šūnu karcinomas gadījumos<sup>2,3</sup>.

Turklāt pārkārtējumi, kuros iesaistīts MYB, ir konstatēti T-ALL gadījumos, piemēram, t(6;7)(q23;q34) translokācija, kurā iesaistīts TRB, ir konstatējama aptuveni 6% pacientu, savukārt MYB lokusa fokāli dublikāti ir konstatējami aptuveni 10% pacientu<sup>1,4</sup>.

#### Zondes specifikācija

MYB, 6q23.3, sarkana  
D6Z1, 6p11.1-q11.1, zaļa



MYB zonžu maisījumā ietilpst 183kb zonde, marķēta sarkanā krāsā, kas nosedz visu MYB gēnu un reģionu telomēriski šim gēnam, kurā ietilpst AH11 gēna centromēriskā daļa. Šajā zonžu maisījumā ietilpst arī 6. centromēra (D6Z1) kontrolzonde, kas marķēta zaļā krāsā.

#### Nodrošinātie materiāli

**Zonde:** 50 µl flakonā (5 testi) vai 100 µl flakonā (10 testi)

Zondes tiek nodrošinātas iepriekš sajauktā veidā hibridizācijas šķīdumā (formamīds; dekstrāna sulfāts; 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)).

#### Brīdinājumi un piesardzības pasākumi

1. Paredzēts lietošanai *in vitro* diagnostikā. Tikai profesionālai lietošanai.
2. Apejoties ar DNS zondēm un DAPI kontrasta krāsvielu, valkājiet cimdus.
3. Zondes maisījumos ietilpst formamīds, kas ir teratogēns, tādēļ nedrīkst pieļaut to izgarojumu ieelpošanu un nonākšanu saskarē ar ādu. Rīkojieties ar to piesardzīgi; valkājiet cimdus un laboratorijas virsvalku.
4. DAPI ir potenciāli kancerogēna viela. Rīkojieties ar to piesardzīgi; valkājiet cimdus un laboratorijas virsvalku.
5. Atbrīvojieties no visām bīstamajām vielām atbilstoši jūsu iestādē spēkā esošajām vadlīnijām attiecībā uz bīstamu atkritumu utilizāciju.
6. Operatoriem jāspēj atšķirt sarkano, zilo un zaļo krāsu.
7. Neievērojot norādīto protokolu un norādījumus par reaģentiem, var tikt ietekmēta veikspēja un iegūti kļūdaini pozitīvi vai kļūdaini negatīvi rezultāti.
8. Zondi nedrīkst atšķaidīt vai veidot maisījumus ar citām zondēm.
9. Ja protokola priekšdenaturēšanas fāzes laikā netiek izmantoti 10 µl zondes, var tikt ietekmēta veikspēja un iegūti kļūdaini pozitīvi vai kļūdaini negatīvi rezultāti.

#### Uzglabāšana un apiešanās

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



Zonde paliek stabila normālas lietošanas gaitā notiekošajos sasaldēšanas/atkausēšanas ciklos (vienu ciklu veido zondes izņemšana no saldētavas un ievietošana atpakaļ saldētavā) un ir fotostabila līdz pat 48 stundām pēc nonākšanas pat tīvīgā apgaismojumā. Ir jāveic viss iespējamais, lai ierobežotu gaismas un temperatūras svārstību ietekmi.

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

Ir jāizmanto kalibrēts aprīkojums.

1. Sildierīce (ar cietu sildvirsmu un precīzu temperatūras regulēšanu līdz pat 80 °C)
2. Kalibrētas dažāda tilpuma mikropipetes un uzgaļi 1–200 µl diapazonā.
3. Ūdens vannas ar precīzu temperatūras regulēšanu — 37 °C un 72 °C
4. Mikrocentrifūgas mēģenes (0,5 ml)
5. Luminiscences mikroskops (sk. sadaļu Ieteikumi attiecībā uz luminiscences mikroskopu)
6. Fāžu kontrasta mikroskops
7. Tīri plastmasas, keramikas vai karstumizturīga stikla Koplina trauki
8. Pincete
9. Kalibrēta pH mērīerīce (vai pH indikatora strēmeles, ar kurām var veikt mērījumus pH 6,5–8,0 diapazonā)
10. Kontainers ar mitru vidi
11. Luminiscencei atbilstoša mikroskopa objektīva iegremdēšanas eļļa
12. Galda 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 (sāļi-sodium citrate — SSC)
2. 100% etanols
3. Tween-20
4. 1M nātrija hidroksīds (NaOH)
5. 1M sālsskābe (HCl)
6. Attīrīts ūdens

## Uz luminiscences mikroskopu attiecināmie ieteikumi

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

| Fluorofors | Ierosme <sub>maks.</sub> [nm] | Izstarošana <sub>maks.</sub> [nm] |
|------------|-------------------------------|-----------------------------------|
| Zaļš       | 495                           | 521                               |
| Sarkans    | 596                           | 615                               |

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

Pirms lietošanas pārbaudiet luminiscences mikroskopu, lai pārliecinātos, vai tas darbojas pareizi. Izmantojiet iegremdēšanas eļļu, kas piemērota luminiscences mikroskopijai un nodrošina zemautoluminiscences līmeni. Nepieļaujiet DAPI luminiscences uzturēšanas šķīduma sajaukšanos ar mikroskopa iegremdēšanas eļļu, jo pretējā gadījumā radīsies signāla traucējumi. Rīkojieties atbilstoši ražotāja ieteikumiem attiecībā uz spuldzes un filtru kalpošanas ilgumu.

## Paraugu sagatavošana

Šis komplekts ir paredzēts izmantošanai ar hematoloģiski iegūtām šūnu suspensijām, kas fiksētas Karnuā šķīduma (3:1 metanols/etīlskābe) fiksatorā un ir sagatavotas atbilstoši laboratorijā vai iestādē spēkā esošajām vadlīnijām. Sagatavojiet gaisā nožāvētus paraugus uz mikroskopa priekšmetstikliņiem atbilstoši standarta citoģenētiskajām procedūrām. AGT *citoģenētikas laboratorijas rokasgrāmata* ir ietverti ieteikumi par paraugu ņemšanu, kultūrēšanu, ievākšanu un priekšmetstikliņu sagatavošanu<sup>5</sup>.

## Šķīdumu sagatavošana

### Etanola šķīdumi

Atšķaidiet 100% etanolu ar attīrītu ūdeni atbilstoši tālāk norādītajām proporcijām un rūpīgi samaisiet.

- 70% etanols — 7 daļas 100% etanola ar 3 daļām attīrīta ūdens
- 85% etanols — 8,5 daļas 100% etanola ar 1,5 daļām 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 mēnešu 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 mēnešu 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 mēnešu ilgumā istabas temperatūrā hermētiski noslēdzamā konteinerā.

## Luminiscētās in situ hibridizācijas 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 tiek izmantota citoģenētiskā žāvēšanas kamera:** priekšmetstikliņu sagatavošanai jāizmanto citoģenētiskā žāvēšanas kamera. Lai nodrošinātu optimālu šūnu parauga sagatavošanu, kamera jādarbina, iestatot aptuveni 25 °C temperatūru un 50% mitruma. Ja citoģenētiskā žāvēšanas kamera nav pieejama, kā alternatīvu var izmantot gāzu nosūcēju).
2. Iegremdējiet priekšmetstikliņu 2xSSC šķīdumā istabas temperatūrā uz 2 minūtēm, neveicot maisīšanu.
3. Veiciet dehidrēšanas etanolā sērijas (70%, 85% un 100%), katru 2 minūtes istabas temperatūrā.
4. Ļaujiet nožūt.

### Priekšdenaturēšana

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

### Denaturēšana

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

### Hibridizācija

11. Ievietojiet priekšmetstikliņu gaismu necaurlaidīgā 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 šķīdumu no priekšmetstikliņa un iegremdējiet to 2xSSC, 0,05% Tween-20 šķīdumā istabas temperatūrā (pH 7,0) uz 30 sekundēm nemaisot.
16. Noteciniet šķīdumu no priekšmetstikliņa un katram paraugam pievienojiet 10 µl DAPI luminiscences uzturēšanas līdzekli.
17. Uzlieciet segstikliņu, likvidējiet burbuļus un ļaujiet krāsai tumsā atstāties 10 minūtes.
18. Skatiet luminiscences mikroskopā (sk. **Ieteikumi attiecībā uz luminiscences mikroskopu**).

### Sagatavoto priekšmetstikliņu stabilitāte

Sagatavotie priekšmetstikliņi ir analizējami 1 mēneša periodā, ja tiek glabāti tumsā un istabas temperatūrā vai par istabas temperatūru zemākā temperatūrā.

### Ieteikumi attiecībā uz procedūru

1. Priekšmetstikliņu karsēšana vai novecošana var samazināt signāla luminiscenci.
2. Tādu reaģentu izmantošana, kas nav uzņēmuma CytoceLL Ltd. nodrošināti vai ieteikti 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 veikspējas nodrošināšanai.
4. Skalošanas šķīdumu koncentrācijas, pH vērtības un temperatūras vērtības ir svarīgas, jo pārāk lielas pielādes gadījumā iespējama nespecifiska sasaiste, savukārt pārāk mazas pielādes gadījumā 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

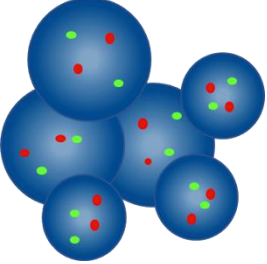
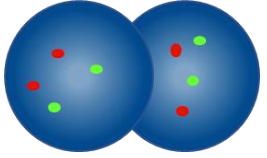
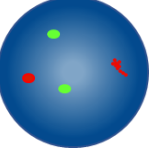
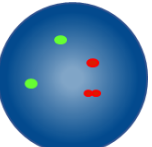
Paraugu nedrīkst analizēt tālāk norādītajos gadījumos.

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

- Šūnu kodolu robežas nav izšķiramas un nav veselās.

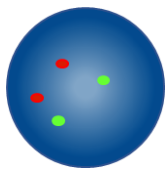
#### Uz analīzi attiecināmās vadlīnijas

- 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 jāsak analīze no priekšmetstikliņa kreisās puses, savukārt otram laboratorijas speciālistam — no priekšmetstikliņa labās puses.
- Katram laboratorijas speciālistam jādokumentē savi rezultāti atsevišķās lapās.
- Ir jāanalizē tikai veselī kodoli, nevis pārklājošies kodoli, sablīvējušies kodoli vai kodoli, kurus sedz citoplazmatiskās atliekas vai augsta līmeņa autoluminiscence.
- Jāizvairās no zonām ar pārmērīgu citoplazmatisko atlieku apjomu vai nespēcīgu 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 signāla platumi |

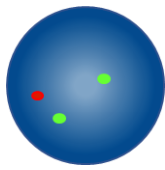
#### Paredzamie rezultāti

##### Paredzamais normālu signālu modelis



Normālā šūnā ir paredzami divi sarkani un divi zaļi signāli (2S, 2Z).

##### Paredzamais anormālo signālu modelis



Šūnā ar MYB delēciju paredzamais signālu modelis ir viens sarkans un divi zaļi signāli (1S, 2Z).

Citi signālu modeļi ir iespējami aneipbīdīs/nelīdzsvarotos paraugos.

#### Zināmā krusteniskā reakcija

Nav zināmu krustenisko reakciju.

#### Ziņošana par nevēlamiem notikumiem

Ja uzskatāt, ka ir radušies šīs ierīces darbības traucējumi vai tās veikta pējas rādītāji ir pasliktinājušies, iespējami izraisot nelabvēlīgu notikumu (piemēram, novēlotu vai nepareizu diagnozi, novēlotu vai nepiemērotu terapiju), par to nekavējoties jāziņo ražotājam (**e-pasta adrese: vigilance@ogt.com**).

Bar šādu notikumu arī var būt jāziņo kompetentajai iestādei attiecīgajā valstī. Kontaktpersonu medicīnas ierīču kontroles jautājumos saraksts ir atrodams šajā vietnē: <http://ec.europa.eu/growth/sectors/medical-devices/contacts/>.

#### Specifiskās veiktspējas raksturlielumi

##### Analītiskais specifiskums

Analītiskais specifiskums tiek izteikts kā to signālu procentuālā vērtība, kas hibridizējas ar pareizo lokusu un nekādu citu vietu. Analītiskais specifiskums tika noteikts, veicot 200 mērķa lokusu analīzi. Analītiskais specifiskums tika noteikts, luminiscentās in situ hibridizācijas signālu, kas hibridizējās ar pareizo lokusu, skaitu izdalot ar hibridizēto luminiscentās in situ hibridizācijas signālu kopskaitu.

##### 1. tabula Zondes MYB Deletion Probe analītiskais specifiskums

| Zonde       | Mērķa lokuss | Ar pareizo lokusu hibridizēto signālu skaits | Hibridizēto signālu kopskaits | Specifiskums (%) |
|-------------|--------------|--|-------------------------------|------------------|
| Sarkans MYB | 6q23         | 200  | 200                           | 100              |
| Zaļš D6Z1   | 6p11.1-q11.1 | 200  | 200                           | 100              |

##### Analītiskais jutīgums

Analītiskais jutīgums tiek izteikts kā novērtējamo interfāzes šūnu ar paredzamu normālo signālu modeli procentuālā vērtība. Analītiskais jutīgums tika noteikts, analizējot interfāzes šūnas dažādos normālos paraugos. Jutīgums tika aprēķināts kā novērtējamo šūnu ar paredzamo signālu modeli procentuālā vērtība (ar 95% ticamības intervālu).

##### 2. tabula Zondes MYB Deletion Probe analītiskais jutīgums

| Šūnu ar paredzamiem signālu modeļiem skaits | Šūnu ar novērtējamiem signāliem skaits | Jutīgums (%) | 95% ticamības intervāls |
|---|--|--------------|-------------------------|
| 479   | 500                                    | 95,8         | 1,7                     |

#### Normalitātes robežvērtību raksturojums

Uz luminiscentās in situ hibridizācijas zondēm attiecināmā normalitātes robežvērtība ir novērtējamo interfāzes šūnu ar specifisku anormālo signālu modeli, ar kādu paraugs ir uzskatāms par normālu attiecībā uz šādu signālu modeli, maksimālā procentuālā vērtība.

Normalitātes robežvērtība tika noteikta, izmantojot paraugus no normāliem un pozitīviem pacientiem. Katram paraugam tika reģistrēti 100 šūnu signālu modeļi. Tika aprēķināts Jūdena indekss, lai noteiktu robežvērtību, kurai ir maksimizēts jutīgums + specifiskums -1.

##### 3. tabula Zondes MYB Deletion Probe normalitātes robežvērtību raksturojums

| Anomālu signālu modelis | Jūdena indekss | Normalitātes robežvērtība (%) |
|-------------------------|----------------|-------------------------------|
| 1S, 2Z                  | 0,97           | 8                             |

Laboratorijām jāveic robežvērtību verifikācija, izmantojot savus datus<sup>6,7</sup>.

#### Precizitāte un reproducējamība

Precizitāte ir testa dabīgo atšķirību rādītājs, testu atkārtotajai vairākas reizes vienādos apstākļos. Šis rādītājs tika noteikts, analizējot atkārtotu viena parauga testēšanu ar zondēm no vienas partijas, vienādos apstākļos un vienā dienā.

Reproducējamība ir testa variabilitātes rādītājs un ir noteikta, ņemot vērā paraugu līmeņa, dienas līmeņa un partijas līmeņa variabilitāti. Dienas līmeņa reproducējamība tika noteikta, analizējot vienus un tos pašus paraugus trīs dažādās dienās. Partijas līmeņa reproducējamība tika noteikta, vienā dienā analizējot vienus un tos pašus paraugus un izmantojot zondes no trīs dažādām partijām. Paraugu līmeņa reproducējamība tika noteikta, analizējot trīs parauga replikātus vienā dienā. Katram paraugam tika reģistrēti 100 interfāzes šūnu signālu modeļi un tika aprēķināta šūnu ar paredzamo signālu modeli procentuālā vērtība.

Reproducējamība un precizitāte tika aprēķinātas kā standartnovirze (Standard Deviation — STDEV) starp replikātiem katram mainīgajam, kā arī vispārējā vidējā STDEV.

4. tabula Zondes MYB Deletion Probe reproducējamība un precizitātes

| Mainīgais         | Standartnovirze (STDEV) |
|-------------------|-------------------------|
| Precizitāte       | 1,09                    |
| Paraugu līmeņa    | 1,19                    |
| Dienas līmeņa     | 1,20                    |
| Partijas līmeņa   | 0,90                    |
| Vispārīgā novirze | 1,06                    |

**Klīniskā veikspēja**

Klīniskā veikspēja tika noteikta, izmantojot produkta paredzēto populāciju reprezentējošu paraugu. Katram paraugam tika reģistrēti  $\geq 100$  interfāzes šūnu signālu modeļi. Normalitāte/anormalitāte tika noteikta, salīdzinot šūnu ar specifisku anormālo signālu modeli procentuālo vērtību ar normalitātes robežvērtību. Rezultāti pēc tam tika salīdzināti ar zināmo parauga statusu.

Klīnisko datu rezultāti tika analizēti, lai iegūtu jutīguma, specifiskuma un normalitātes vērtības, izmantojot viendimensionālu pieeju.

5. tabula Zondes MYB Deletion Probe klīniskā veikspēja

| Mainīgais  | Rezultāts |
|--|-----------|
| Klīniskais jutīgums (pareizi pozitīvo rezultātu rādītājs (true positive rate — TPR))     | 97,8%     |
| Klīniskais specifiskums (pareizi negatīvo rezultātu rādītājs (true negative rate — TNR)) | 99,6%     |
| Kļūdaini pozitīvo rezultātu rādītājs (false positive rate — FPR) = 1 – specifiskums      | 0,4%      |

**Papildinformācija**

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

**Tālr.:** +44 (0)1223 294048

**E-pasts:** techsupport@cytozell.com

**Tīmeklī:** www.ogt.com

**Atsauces**

1. Clappier *et al.*, Blood 2007;110(4):1251-1261
2. Starostik *et al.*, Blood 2000;95(4):1180-1187
3. Stilgenbauer *et al.*, Leukemia, 1999;13: 1331-1334
4. Van Vlierberghe and Ferrando, J of Clin Inv 2012;122(10):3398-3406
5. Arsham, M.S., Barch, M.J. and Lawce H.J. (eds.) (2017) *The AGT Cytogenetics Laboratory Manual*. New Jersey: John Wiley & Sons Inc.
6. 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.
7. 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 skaidrojums**

|   |   |
|---|---|
| REF   | Iv: Kataloga numurs   |
| IVD   | Iv: <i>In vitro</i> diagnostikai paredzēta medicīnas ierīce |
| LOT   | Iv: Partijas kods   |
|  | Iv: Skatīt lietošanas instrukciju                           |
|  | Iv: Ražotājs  |
|  | Iv: Derīguma termiņš  |
|  | Iv: Sargāt no saules gaismas                                |
|  | Iv: Temperatūras ierobežojums                               |
|  | Iv: Saturs ir pietiekams <n> testiem                        |
| CONT  | Iv: Saturs  |

**Patenti un preču zīmes**

CytoCell ir SIA Cytozell reģistrēta preču zīme.



**CytoCell Ltd.**

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-pasts:** probes@cytozell.com  
**Tīmeklī:** www.ogt.com