



A Sysmex Group Company



Lietošanas instrukcija

REF: LPH 081-S/LPH 081

Zonde MLL (KMT2A)/AFF1 Translocation, Dual Fusion Probe



TIKAI PROFESIONĀLAM LIETOJUMAM



www.cytoCELL.com

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

Ierobežojumi

Šī ierīce ir paredzēta pārkārtojumu ar pārtraukumpunktiem noteikšanai reģionā, ko ietver sarkanie un zaļie kloni šajā zonžu komplektā, kurā ietilpst *KMT2A* un *AFF1* reģioni. Izmantojot šo produktu, varnetikt noteikti pārtraukumpunkti ārpus šī reģiona vai pārkārtojumu varianti, kas pilnībā ietilpst šajā reģionā.

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 slimībām, 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 MLL (KMT2A)/AFF1 Translocation, Dual Fusion Probe ir kvalitatīvs, neautomatizēts luminiscētās in situ hibridizācijas (fluorescence in situ hybridisation — FISH) tests, kas paredzēts hromosomālo pārkārtojumu, kurus iesaistīts 4. hromosomas reģions 4q21.3-q22 un 11. hromosomas reģions 11q23.3, noteikšanai Karnuā šķīdumā (3:1 metanols/etiķskābe) fiksētās hematoloģiski iegūtās šūnu suspensijās no pacientiem, kuriem ir konstatēta akūta mieloida leikēmija (AML) vai akūta limfoblastiskā leikēmija (ALL) 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 *KMT2A-AFF1* translokācijas statusu ir svarīga klīniskajai pārvaldībai.

Testa princips

Luminiscētā *in situ* hibridizācija (Fluorescence in situ hybridisation — FISH) ir metode, kas ļauj noteikt DNS sekvenču metafāzū hromosomās vai interfāzes kodolos fiksētiem citoģenētiskiem paraugiem. Šajā metodē tiek izmantotas DNS zondes, kas hibridizējas ar veselām hromosomām vai atsevišķām unikālām sekvencēm un kalpo kā efektīvs G joslu citoģenētiskās 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 nesaisītā un nespecifiski saistītā DNA zonde tiek aizvākta un DNS tiek kontrastēta vizualizācijai. Pēc tam, izmantojot luminiscēšanas mikroskopiju, hibridizēto zondi var vizualizēt mērķa materiālā.

Informācija par zondi

KMT2A (*lizīna metiltransferāzes 2A*) gēns, kas atrodas 11q23.3, un *AFF1* (*AF4/FMR2 saimes locekļa*) gēns, kas atrodas 4q21.3, ir iesaistīti t(4;11)(q21;q23.3) translokācijā, kas ir visbiežāk sastopamā translokācija, kurā iesaistīts *KMT2A* gēns, akūtas limfoblastiskās leikēmijas (ALL) gadījumos¹.

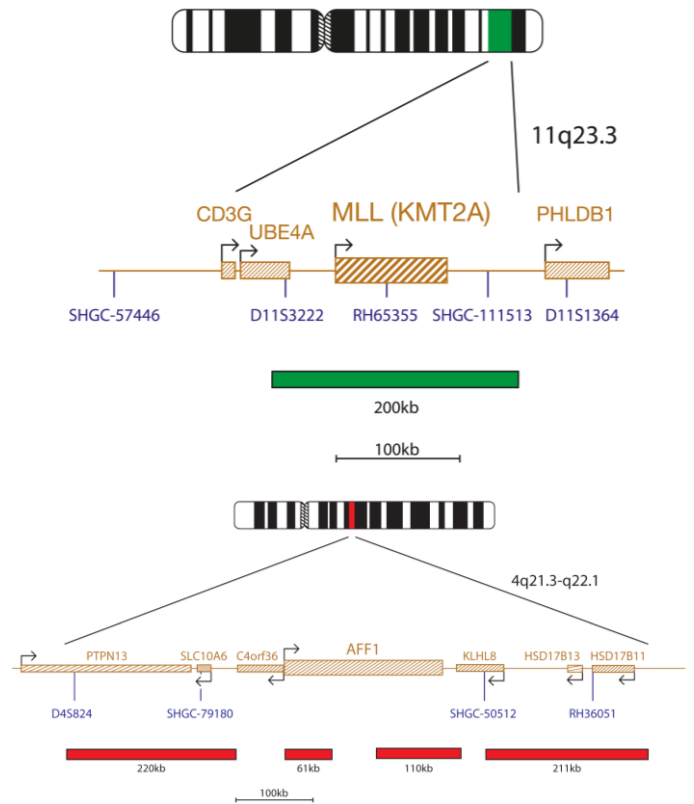
Jānorāda, ka t(4;11)(q21;q23.3) translokācija izraisa divu reciprokalu fūzijas gēnu ģenerēšanu: *KMT2A-AFF1* un *AFF1-KMT2A*. *KMT2A-AFF1* leikēmiskās īpašības ir dokumentētas, bet *AFF1-KMT2A* fūzijas proteīna loma joprojām nav skaidra^{2,3,4}.

AK spēkā esošajās paraugprakses vadlīnijās ir sniegts šāds ieteikums: ja hromosomu analīze nav sekmīga, bet FISH norāda uz *KMT2A* pārkārtojumu, ir jāveic turpmāki mēģinājumi identificēt t(4;11), jo t(4;11)(q21;q23) ir saistīta ar nelabvēlīgu prognozi no pacientiem ar šo translokāciju var tikt nodrošināta terapija atbilstoši augsta riska MRC protokoliem⁵.

Zonde MLL/AFF1 Translocation, Dual Fusion Probe ļauj noteikt abus t(4;11)(q21;q23) translokācijas ģenerētos fūzijas gēnus.

Zondes specifikācija

MLL, 11q23.3, zaļa
AFF1, 4q21.3-q22.1, sarkana



MLL zonde, marķēta zaļā krāsā, nosedz 200kb reģionu, tostarp arī MLL (*KMT2A*) gēnu. *AFF1* zondē, kas marķēta sarkanā krāsā, ietilpst četri kloni (220kb, 61 kb, 110kb un 211kb), kas nosedz *AFF1* gēnu un apkārtnējos reģionus.

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 (salīne-sodium citrate — SSC)) un ir gatavas lietošanai.

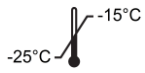
Kontrasta krāsviela: 150 µl flakonā (15 testi)

Kontrasta krāsviela ir DAPI luminiscēšanas 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 beigu datumam, kas norādīts uz komplekta marķējuma. Zondes un kontrasta krāsvielas flakoni ir jāuzglabā tumšā.



Zonde paliek stabila normālas lietošanas gaitā noteikto šķīdumu sasaldēšanas/atkausēšanas ciklos (vienu ciklu veido zondes izņemšana no saldētavas un ievietošana atpakaļ saldētavā) un ir fotostabila līdz pat 48 stundām pēc nonākšanas pasatvītā 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 vanna 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 mērierīce (vai pH indikatora strēmeles, ar kurām var veikt mērījumus pH 6,5–8,0 diapazonā)
10. Konteiners 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 (salīne-sodium citrate — SSC)
2. 100% etanols
3. Tween-20
4. 1M nātrija hidroksīds (NaOH)
5. 1M sāļsskābe (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 zonžu komplektā izmantotie fluorofori tiks ierosināti un izstaros tālāk norādītā garuma viļņos.

Fluorofors	Ierosme _{maks.} [nm]	Izstarošana _{maks.} [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 trīsjoslu DAPI/zaļā spektra/sarkanā spektra filtru vai divjoslu zaļā spektra/sarkanā spektra filtru.

Pirms lietošanas pārbaudiet luminiscences mikroskopu, lai pārlicinātos, vai tas darbojas pareizi. Izmantojiet iegremdēšanas eļļu, kas piemērota luminiscences mikroskopijai un nodrošina zemu autoluminiscences līmeni. Izvairieties no DAPI luminiscences uzturēšanas šķīduma sajaukšanās 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 metāns/etiķskābe) fiksatorā un ir sagatavotas atbilstoši laboratorijā vai iestādē spēkā esošajām vadlīnijām. Sagatavojiet gaisā nožāvētus paraugus uz mikroskopa priekšmetstikliņiem atbilstoši standarta citoģenētiskajām procedūrām. AGT *citoģenētiskās laboratorijas rokasgrāmātā* ir ietverti ieteikumi par paraugu ņemšanu, kultūrēšanu, ievākšanu un priekšmetstikliņu sagatavošanu⁶.

Šķīdumu sagatavošana

Etanola šķīdumi

Atšķaidiet 100% 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
- Glābāiet 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 mēnešus 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 mēnešus 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 mēnešus 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% mitrumu. 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 centrifūgējiet.
6. Izmantojot pipeti, pārlicinieties, vai zondes šķīdums ir vienbārgi samaisīts.
7. Paņemiet 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 attīstīties 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 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 mēršanai 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 lietotajiem ir jāveic protokola optimizācija atbilstoši saviem paraugiem.

8. Ja apstākļi nav pietiekami optimāli, iespējama nespecifiska sasaiste, kas var tikt nepareizi interpretēta kā zondes signāls.

Rezultātu interpretēšana

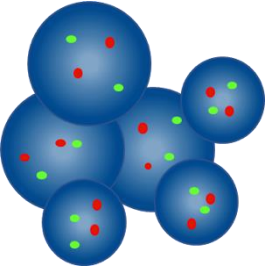
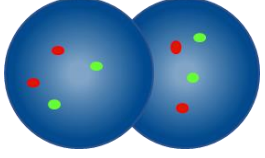
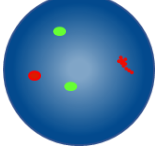
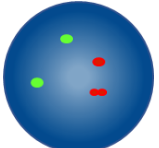
Sagatavotā priekšmetstikliņa ar paraugu kvalitātes novērtēšana

Paraugu nedrīkst analizēt tālāk norādītajos gadījumos.

- Signāli ir pārāk vāji analizēšanai atsevišķos filtrus — lai veiktu analīzi, signāliem jābūt spilgtiem, labi izšķīrjamiem un viegli novērtējamiem.
- Ir daudz salīpušu/pārklājošos 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 izšķīramas un nav veselās.

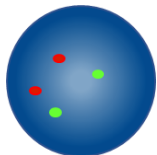
Uz analīzi attiecināmās vadlīnijas

- 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 jāskatās 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 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 signāla platumi

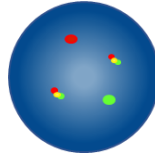
Paredzamie rezultāti

Paredzamais normālu signālu modelis



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

Paredzamais anormālo signālu modelis



Šūnā ar MLL-AFF1 translokāciju paredzamais signālu modelis ir viens sarkans signāls, viens zaļš signāls un divi fūzijas signāli (kas var izskatīties kā cieši kopā esoši sarkani un zaļi signāli) (1S, 1Z, 2F).

Citi signālu modeļi ir iespējami aneipbīdīs/nelīdzsvarotos paraugos. Ņemiet vērā, ka citu tādu MLL pārkārtojumu gadījumā, kas nav MLL-AFF1 translokācija, zaļais KMT2A signāls var izskatīties sadalīts.

Zināmā krusteniskā reakcija

Nav zināmu krustenisko reakciju.

Ziņošana par nevēlamiem notikumiem

Ja uzskatāt, ka ir radušies šīs ierīces darbības traucējumi vai tās veiktais pētījums 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).

Par 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 veikspējas 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, luminiscētās in situ hibridizācijas signālu, kas hibridizējās ar pareizo lokusu, skaitu izdalot ar hibridizēto luminiscētās in situ hibridizācijas signālu kopskaitu.

1. tabula Zondes MLL/AFF1 Translocation, Dual Fusion Probe analītiskais specifiskums

Zonde	Mērķa lokuss	Ar pareizo lokusu hibridizēto signālu skaits	Hibridizēto signālu kopskaits	Specifiskums (%)
MLL, zaļa	11q23.3	200	200	100
AFF1, sarkana	4q21.3-q22.1	200	200	100

Analītiskais jutīgums

Analītiskais jutīgums tiek izteikts kā novērtējamo interfāzes šūnu ar paredzamo 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 MLL/AFF1 Translocation, Dual Fusion Probe analītiskais jutīgums

Šūnu ar paredzamiem signālu modeļiem skaits	Šūnu ar novērtējamiem signāliem skaits	Jutīgums (%)	95% ticamības intervāls
480	500	96,0	1,9

Normalitātes robežvērtību raksturojums

Uz luminiscētās 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 MLL/AFF1 Translocation, Dual Fusion Probe normalitātes robežvērtību raksturojums

Anomālu signālu modelis	Jūdena indekss	Normalitātes robežvērtība (%)
1S, 1Z, 2F	1,0	4

Laboratorijām jāveic robežvērtību verifikācija, izmantojot savus datus^{7,8}.

Precizitāte un reproducējamība

Precizitāte ir testa dabīgo atšķirību rādītājs, testu atkārtotajiem 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 MLL/AFF1 Translocation, Dual Fusion Probe reproducējamība un precizitāte

Mainīgais	Standartnovirze (STDEV)
Precizitāte	0,19
Paraugu līmeņa	0,19
Dienas līmeņa	0,19
Partijas līmeņa	0,00
Vispārīgā novirze	0,22

Klīniskā veiktspēja

Klīniskā veiktspēja tika noteikta, izmantojot produkta paredzēto populāciju reprezentējošu paraugu. Katram paraugam tika reģistrēti ≥ 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 MLL/AFF1 Translocation, Dual Fusion Probe klīniskā veiktspēja

Mainīgais	Rezultāts
Klīniskais jutīgums (pareizi pozitīvo rezultātu rādītājs (true positive rate — TPR))	100%
Klīniskais specifiskums (pareizi negatīvo rezultātu rādītājs (true negative rate — TNR))	100%
Kļūdaini pozitīvo rezultātu rādītājs (false positive rate — FPR) = 1 – specifiskums	0%

Papildinformācija

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

Tālr.: +44 (0)1223 294048

E-pasts: techsupport@cytoCELL.com

Timeklī: www.ogt.com

Atsauces

- Meyer *et al.*, Leukemia 2009;23(8):1490-9
- Smith *et al.*, Genes Dev. 2011;25(7): 661-72
- Kumar *et al.*, Leuk Res. 2011;35(3):305-9
- Bursen *et al.*, Blood. 2010; 29;115(17):3570-9
- Professional Guidelines for Clinical Cytogenetics: Acute Lymphoblastic Leukaemia Best Practice Guidelines (2011) V1.00. www.cytogenetics.org.uk
- 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, 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: Temperatūras ierobežojums
	Iv: Sargāt no saules gaismas
	Iv: Saturs ir pietiekams <n> testiem
CONT	Iv: Saturs

Patenti un preču zīmes

CytoCell ir SIA CytoCell 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@cytoCELL.com
Timeklī: www.ogt.com