



A Sysmex Group Company



Instrukcja użytkownika

REF: LPH 069-S / LPH 069

Alpha Satellite 12 Plus for CLL



WYŁĄCZNIE DO UŻYTKU PROFESJONALNEGO



www.cytocell.com

Dalsze informacje oraz dokumenty w innych językach są dostępne pod adresem www.ogt.com

Ograniczenia

Ten wyrób jest przeznaczony do wykrywania naddatków genomowych większych niż region obejmowany przez czerwony klon zawarty w tym zestawie sond, który zawiera centromer chromosomu 12. Produkt ten może nie umożliwić wykrycia naddatków/ubytków genomowych poza tym regionem lub częściowych naddatków/ubytków w tym regionie.

Ten test nie jest przeznaczony do użytku jako samodzielny test diagnostyczny, do badań prenatalnych, populacyjnych badań przesiewowych, badań przyłóżkowych ani do samotestowania. Ten produkt jest przeznaczony wyłącznie do użytku profesjonalnego w laboratorium; wszystkie wyniki powinny być interpretowane przez personel posiadający odpowiednie kwalifikacje, z uwzględnieniem innych istotnych wyników testów.

Ten produkt nie został zatwierdzony do stosowania dla typów próbek lub chorób innych niż określone w części dotyczącej przeznaczenia.

Raportowanie i interpretacja wyników metody FISH powinny być zgodne z profesjonalnymi standardami praktyki i dokonywane z uwzględnieniem innych informacji klinicznych i diagnostycznych. Zestaw ten należy traktować jako uzupełnienie innych diagnostycznych testów laboratoryjnych. Z tego względu nie należy inicjować żadnych działań terapeutycznych wyłącznie na podstawie wyniku uzyskanego metodą FISH.

Nieprzestrzeganie protokołu może wpłynąć na skuteczność testu i doprowadzić do uzyskania wyników fałszywie pozytywnych/negatywnych.

Ten zestaw nie został zatwierdzony do stosowania w celach innych niż określone w części dotyczącej przeznaczenia.

Przeznaczenie

Produkt CytoCell Alpha Satellite 12 Plus for CLL to jakościowy, nieautomatyzowany test wykonywany metodą fluorescencyjnej hybrydyzacji *in situ* (Fluorescence *In Situ* Hybridisation, FISH) przeznaczony do detekcji chromosomowych naddatków w obrębie regionu centromerycznego chromosomu 12. w utrwalonych w roztworze Carnoya (metanol/kwas octowy w stosunku 3:1) zawieszonych komórek pochodzenia hematologicznego pobranych od pacjentów z rozpoznaniem lub podejrzeniem przewlekłej białaczki limfocytowej (Chronic Lymphocytic Leukaemia, CLL).

Wskazania

Ten produkt zaprojektowano jako produkt uzupełniający inne testy kliniczne i histopatologiczne wykonywane w ramach przyjętych ścieżek diagnostycznych i opieki klinicznej, podczas których wiedza o obecności naddatku w obrębie centromeru chromosomu 12. w istotny sposób wpływałaby na postępowanie kliniczne.

Zasady działania testu

Fluorescencyjna hybrydyzacja *in situ* (Fluorescence *In Situ* Hybridisation, FISH) to technika, która umożliwia wykrywanie sekwencji DNA na chromosomach metafazowych lub w jądrach interfazowych obecnych w utrwalonych próbkach cytogenetycznych. Technika ta obejmuje wykorzystanie sond DNA, które hybrydują do całych chromosomów lub pojedynczych unikalnych sekwencji, i stanowi istotne uzupełnienie cytogenetycznej analizy prążków G. Technika ta może być obecnie wykorzystywana jako kluczowe narzędzie diagnostyczne w chromosomalnych analizach prenatalnych, hematologicznych i guzów litych.

Docelowa sekwencja DNA, po utrwaleniu i denaturacji, staje się dostępna do przyłączenia do zdenaturowanej w podobny sposób, fluorescencyjnie wyznakowanej sondy DNA o sekwencji komplementarnej. Po hybrydyzacji niezwiązane i nieswoiście związane sondy DNA są usuwane, a DNA jest barwiony kontrastowo w celu jego uwidocznienia. Sondy zhybrydyzowane do materiału docelowego można obserwować pod mikroskopem fluorescencyjnym.

Informacje o sondzie

Trisomia chromosomu 12. jest powtarzającą się nieprawidłowością stwierdzaną w CLL, obserwowaną w 20% przypadków tej choroby¹, która często występuje jako unikalna aberracja cytogenetyczna (40–60% przypadków z trisomią chromosomu 12.)². Pacjenci z trisomią chromosomu 12. są zaliczani do grupy niskiego ryzyka o ile nie mają żadnych innych zmian genetycznych³.

Specyfikacja sondy

D12Z3, 12p11.1-q11.1, kolor czerwony

D12Z3



Produkt Alpha Satellite 12 Plus Probe to sonda zawierająca sekwencje powtórzone, wyznakowana czerwonym fluoroforem, która rozpoznaje centromeryczną sekwencję powtórzoną D12Z3.

Dostarczone materiały

Sonda: 50 µl na fiolkę (5 testów) lub 100 µl na fiolkę (10 testów)

Sondy są dostarczane we wstępnie wymieszanym roztworze hybrydyzacyjnym (formamid; siarczan dekstranu; roztwór soli fizjologicznej i cytrynianu sodu (SSC)) i są gotowe do użycia.

Barwnik kontrastowy: 150 µl na fiolkę (15 testów)

Barwnikiem kontrastowym jest odczynnik DAPI antifade (ES: 0,125 µg/ml DAPI (4,6-diamidyno-2-fenyloindol)).

Ostrzeżenia i środki ostrożności

1. Do diagnostyki *in vitro*. Wyłącznie do użytku profesjonalnego.
2. Podczas pracy z sondami DNA i barwnikiem kontrastowym DAPI należy nosić rękawiczki.
3. Mieszaniny sond zawierają formamid, który wykazuje działanie teratogenne; nie wdychać oparów i nie dopuszczać do kontaktu ze skórą. Zachować ostrożność podczas pracy z tym produktem; nosić rękawiczki i fartuch laboratoryjny.
4. DAPI jest potencjalnym czynnikiem rakotwórczym. Zachować ostrożność podczas pracy z tym produktem; nosić rękawiczki i fartuch laboratoryjny.
5. Wszystkie materiały stwarzające zagrożenie należy wyrzucić zgodnie z wytycznymi placówki dotyczącymi usuwania odpadów stwarzających zagrożenie.
6. Operatorzy muszą być w stanie rozróżniać czerwony, niebieski i zielony kolor.
7. Nieprzestrzeganie wskazanego protokołu oraz nieużywanie właściwych odczynników może wpłynąć na skuteczność testu i doprowadzić do uzyskania wyników fałszywie pozytywnych/negatywnych.
8. Nie należy rozcierzać sondy ani mieszać jej z innymi sondami.
9. Niezastosowanie 10 µl sondy podczas fazy denaturacji wstępnej wykonywanej w ramach protokołu może wpłynąć na skuteczność testu i doprowadzić do uzyskania wyników fałszywie pozytywnych/negatywnych.

Przechowywanie i postępowanie z produktem

Zestaw należy przechowywać w zamrażarce w temperaturze od -25°C do -15°C do daty ważności wskazanej na etykiecie zestawu. Fiolki z sondami i barwnikiem kontrastowym należy przechowywać w ciemności.



Sonda zachowuje stabilność przez wszystkie cykle zamrażania i rozmrażania wykonywane podczas standardowego użytkowania produktu (jeden cykl jest definiowany jako wyjęcie sondy z zamrażarki i ponowne umieszczenie jej w zamrażarce) i zachowuje fotostabilność przez maksymalnie 48 godzin ciągłej ekspozycji na światło. Należy dołożyć wszelkich starań, aby ograniczyć ekspozycję produktów na światło i zmiany temperatury.

Sprzęt i materiały wymagane, ale niedostarczane

Należy używać następującego skalibrowanego sprzętu:

1. Płyta grzewcza (ze stabilną płytą i możliwością dokładnej kontroli temperatury do 80°C)
2. Skalibrowane mikropipety i końcówki umożliwiające przenoszenie różnych objętości cieczy w zakresie 1–200 µl
3. Łażnia wodna z możliwością dokładnej kontroli temperatury na poziomie 37°C i 72°C
4. Probówki mikrowirówkowe (0,5 ml)
5. Mikroskop fluorescencyjny (patrz część „Zalecenia dotyczące mikroskopu fluorescencyjnego”)
6. Mikroskop z kontrastem fazowym
7. Czyste barwnice Coplina z tworzywa sztucznego, ceramiki lub szkła żaroodpornego
8. Szczypczyki

9. Skalibrowany pH-metr (lub papierki wskaźnikowe pH umożliwiające pomiar pH w zakresie 6,5–8,0)
10. Pojemnik zapewniający dużą wilgotność powietrza
11. Olejek imersyjny odpowiedni do obiektywów mikroskopowych klasy fluorescencyjnej
12. Wirówka laboratoryjna
13. Szkiełka mikroskopowe
14. Szkiełka nakrywkowe o wymiarach 24x24 mm
15. Stoper
16. Inkubator nastawiony na temperaturę 37°C
17. Klej kauczukowy
18. Wytrząsarka
19. Cylindry miarowe
20. Mieszadło magnetyczne
21. Skalibrowany termometr

Opcjonalny sprzęt niedostarczany

1. Komora do suszenia próbek do badań cytogenetycznych

Odczynniki wymagane, ale niedostarczane

1. Roztwór soli fizjologicznej i cytrynianu sodu (SSC), 20x
2. Etanol, 100%
3. Tween-20
4. Wodorotlenek sodu (NaOH), 1 M
5. Kwas solny (HCl), 1 M
6. Woda oczyszczona

Zalecenia dotyczące mikroskopu fluorescencyjnego

W celu optymalnej wizualizacji sondy zalecane jest używanie 100-watowej lampy rtęciowej lub równoważnej lampy i obiektywów planapochromatycznych umożliwiających stosowanie olejku imersyjnego przy powiększeniu 60/63x lub 100x. Fluorofory użyte w tym zestawie sond charakteryzują się następującymi długościami fal wzbudzenia i emisji:

Fluorofor	Wzbudzenie _{maks.} [nm]	Emisja _{maks.} [nm]
Czerwony	596	615

Należy upewnić się, że w mikroskopie zamontowane są odpowiednie filtry wzbudzenia i emisji, które obejmują wymienione powyżej długości fal. Do obserwacji czerwonych fluoroforów optymalnie nadaje się pojedynczy filtr pasmowo-przepustowy dla widma czerwonego lub podwójny filtr pasmowo-przepustowy dla barwnika DAPI/widma czerwonego.

Przed użyciem mikroskopu fluorescencyjnego należy sprawdzić, czy działa on prawidłowo. Należy stosować olejek imersyjny odpowiedni do mikroskopii fluorescencyjnej o składzie odpowiednim do niskiej autofluorescencji. Należy unikać mieszania barwnika DAPI antyfade z mikroskopowym olejkiem imersyjnym, ponieważ spowoduje to zaciemnienie sygnałów. Należy przestrzegać zaleceń wytwórcy dotyczących okresu żywotności lampy i wieku filtrów.

Przygotowanie próbki

Zestaw zaprojektowano do użytku na utrwalonych w roztworze Carnoya (metano/kwas octowy w stosunku 3:1) zawiesinach komórek pochodzenia hematologicznego. Komórki należy przygotować zgodnie z wytycznymi obowiązującymi w laboratorium lub placówce. Należy przygotować próbki suszone na powietrzu na szkiełkach mikroskopowych zgodnie ze standardowymi procedurami cytogenetycznymi. Podręcznik AGT *Cytogenetics Laboratory Manual* zawiera zalecenia dotyczące pobierania próbek, prowadzenia hodowli komórek, zbierania komórek z hodowli oraz przygotowywania preparatów⁴.

Przygotowanie roztworów

Roztwory etanolu

Rozcieńczyć 100-procentowy etanol wodą oczyszczoną w określonych poniżej proporcjach i dokładnie wymieszać.

- 70-procentowy etanol — dodać 7 części 100-procentowego etanolu do 3 części wody oczyszczonej
- 85-procentowy etanol — dodać 8,5 części 100-procentowego etanolu do 1,5 części wody oczyszczonej

Przechowywać roztwory przez maksymalnie 6 miesięcy w temperaturze pokojowej w szczelnym pojemniku.

2x stężony roztwór SSC

Rozcieńczyć 1 część 20x stężonego roztworu SSC z 9 częściami wody oczyszczonej; dobrze wymieszać. Zmierzyć pH i doprowadzić je do wartości 7,0 przy użyciu NaOH lub HCl, odpowiednio do potrzeb. Przechowywać roztwór przez maksymalnie 4 tygodnie w temperaturze pokojowej w szczelnym pojemniku.

0,4x stężony roztwór SSC

Rozcieńczyć 1 część 20x stężonego roztworu SSC z 49 częściami wody oczyszczonej; dobrze wymieszać. Zmierzyć pH i doprowadzić je do wartości 7,0 przy użyciu NaOH lub HCl, odpowiednio do potrzeb. Przechowywać roztwór przez maksymalnie 4 tygodnie w temperaturze pokojowej w szczelnym pojemniku.

2x stężony roztwór SSC ze środkiem Tween-20 w stężeniu 0,05%

Rozcieńczyć 1 część 20x stężonego roztworu SSC z 9 częściami wody oczyszczonej. Dodać 5 µl środka Tween-20 na 10 ml roztworu; dobrze wymieszać. Zmierzyć pH i doprowadzić je do wartości 7,0 przy użyciu NaOH lub HCl, odpowiednio do potrzeb. Przechowywać roztwór przez maksymalnie 4 tygodnie w temperaturze pokojowej w szczelnym pojemniku.

Protokół FISH

(Uwaga: Należy możliwie ograniczać ekspozycję sondy i barwnika kontrastowego na światło w laboratorium).

Przygotowanie szkiełek

1. Wkropić próbkę komórek na szkiełko mikroskopowe. Pozostawić do wyschnięcia. (**Opcjonalnie, w przypadku korzystania z komory do suszenia próbek do badań cytogenetycznych:** próbki należy nanieść przy użyciu komory do suszenia próbek do badań cytogenetycznych. Komora powinna mieć temperaturę około 25°C i zapewniać wilgotność 50%, aby umożliwić optymalne naniesienie próbki komórek. Jeśli komora do suszenia próbek do badań cytogenetycznych nie jest dostępna, należy pozostawić próbkę pod wyciągiem).
2. Zanurzyć szkiełko w 2x stężonym roztworze SSC w temperaturze pokojowej na 2 minuty; nie wstrząsać.
3. Odwodnić próbkę, korzystając z szeregu alkoholowego (etanol w stężeniu 70%, 85% i 100%); zanurzać szkiełko w każdym roztworze alkoholu na 2 minuty w temperaturze pokojowej.
4. Pozostawić do wyschnięcia.

Denaturacja wstępna

5. Wyjąć roztwór sond z zamrażarki i pozostawić go do ogrzania do temperatury pokojowej. Przed użyciem roztworu należy krótko odwirować probówkę.
6. Wymieszać roztwór sond pipetą w celu zapewnienia jego jednorodności.
7. Pobrać 10 µl roztworu sond na test i przenieść pobraną objętość do próbki mikrowirówkowej. Bezwzględnie włożyć pozostały roztwór sond z powrotem do zamrażarki.
8. Umieścić roztwór sond i szkiełko z próbką na płycie grzewczej o temperaturze 37°C (+/-1°C) na 5 minut w celu ich wstępnego ogrzania.
9. Wkropić 10 µl mieszaniny sond na próbkę komórek i ostrożnie nanieść szkiełko nakrywkowe. Zakleić szkiełko klejem kauczukowym i poczekać na jego całkowite wyschnięcie.

Denaturacja

10. Denaturować jednocześnie próbkę i mieszaninę sond, ogrzewając szkiełko na płycie grzewczej o temperaturze 75°C (+/-1°C) przez 2 minuty.

Hybrydyzacja

11. Umieścić szkiełko w wilgotnym, światłoszczelnym pojemniku w temperaturze 37°C (+/-1°C) na noc.

Płukania po hybrydyzacji

12. Wyjąć barwnik DAPI z zamrażarki i pozostawić go do ogrzania do temperatury pokojowej.
13. Ostrożnie zdjąć szkiełko nakrywkowe i usunąć wszelkie pozostałości kleju.
14. Zanurzyć szkiełko w 0,4x stężonym roztworze SSC (pH 7,0) w temperaturze 72°C (+/-1°C) na 2 minuty; nie wstrząsać.
15. Pozwolić, aby szkiełko ociekło, a następnie zanurzyć je w 2x stężonym roztworze SSC ze środkiem Tween-20 w stężeniu 0,05% (pH 7,0) w temperaturze pokojowej na 30 sekund; nie wstrząsać.
16. Pozwolić, aby szkiełko ociekło, a następnie nanieść 10 µl barwnika DAPI antyfade na każdą próbkę.
17. Przykryć szkiełkiem nakrywkowym, usunąć wszelkie pęcherzyki powietrza i pozostawić szkiełko w ciemności na 10 minut, aby umożliwić rozwój barw.
18. Obejrzeć pod mikroskopem fluorescencyjnym (patrz **Zalecenia dotyczące mikroskopu fluorescencyjnego**).

Stabilność wykonanych preparatów

Preparaty poddane procedurze nadają się do analizy przez maksymalnie 1 miesiąc, o ile są przechowywane w ciemności w temperaturze pokojowej lub niższej.

Zalecenia dotyczące procedury

1. Wypiekanie lub postarzanie preparatów może zmniejszyć fluorescencję sygnału.
2. Stosowanie odczynników innych niż dostarczone lub zalecane przez firmę Cytocell Ltd może mieć negatywny wpływ na warunki hybrydyzacji.
3. Do pomiaru temperatury roztworów, łaźni wodnych i inkubatorów należy używać skalibrowanego termometru, ponieważ temperatury te są kluczowe dla optymalnego działania produktu.
4. Stężenia, wartości pH i temperatury roztworów wykorzystywanych do płukania są istotne, gdyż mało surowe warunki mogą doprowadzić do nieswoistego wiązania sondy, a zbyt surowe warunki mogą spowodować brak sygnału.
5. Niecałkowita denaturacja może spowodować brak sygnału, a nadmierna denaturacja może również doprowadzić do nieswoistego wiązania.
6. Nadmierna hybrydyzacja może spowodować otrzymanie dodatkowych lub nieoczekiwanych sygnałów.
7. Przed użyciem testu do celów diagnostycznych użytkownicy powinni zoptymalizować protokół dla własnych próbek.
8. Suboptymalne warunki mogą prowadzić do nieswoistego wiązania sond, które może zostać błędnie zinterpretowane jako sygnał sondy.

Interpretacja wyników

Ocena jakości preparatów

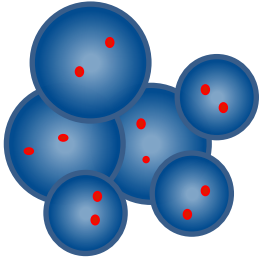
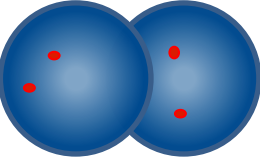
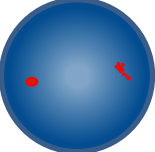
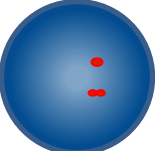
Preparatu nie należy oceniać w następujących przypadkach:

- Sygnały są zbyt słabe, aby można było analizować je w pojedynczych filtrach — do analizy można przystąpić jedynie, jeśli sygnały są jasne, wyraźne i łatwe do oceny.
- Widoczna jest duża liczba zlepionych/nakładających się na siebie komórek, co utrudnia analizę.
- W >50% komórek nie doszło do hybrydyzacji.

- Pomiedzy komórkami znajdują się liczne cząstki fluorescencyjne i/lub widoczne jest „zamglenie” fluorescencyjne, które zakdca sygnał — w przypadku preparatów optymalnych do oceny to powinno być ciemne lub czarne i klarowne.
- Nie można rozrzni granic jądra komórkowego lub są one nieciągłe.

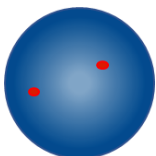
Wytyczne dotyczące analizy

- Każda próbka powinna być analizowana i interpretowana przez dwóch analityków. Wszelkie rozbieżności powinny zosta rozwiązane w wyniku oceny dokonanej przez trzeciego analityka.
- Każdy analityk powinien posiada odpowiednie kwalifikacje zgodne z normami krajowymi.
- Każdy analityk powinien dokona niezależnej oceny 100 jąder dla każdej próbki. Pierwszy analityk powinien rozpocz analiz od lewej strony preparatu, a drugi od prawej strony preparatu.
- Każdy analityk powinien zapisa wsne wyniki w odrębnym arkuszu.
- Należy analizowa wycznie nienaruszone jądra, nie wolno analizowa jąder nakladajcych się na siebie, zlepionych, pokrytych resztkami cytoplazmy ani jąder wykazujących wysoki stopień autofluorescencji.
- Należy unikać obszarów, w których występuje nadmierna ilo resztek cytoplazmy lub nieswoista hybrydyzacja.
- Intensywno sygnału może się rznic nawet w obrębie jednego jądra. W takich przypadkach należy użyć filtrów pojedynczych i/lub wyregulować płaszczyzn ogniskowania.
- W warunkach suboptymalnych sygnały mogą wyglda na rozlane. Jeśli dwa sygnały o tym samym kolorze stykają się ze sobą, odleglo między nimi jest nie większa niż dwie szerokości sygnału lub istnieje cienkie pasmo łączące oba sygnały, należy zlicza je jako jeden sygnał.
- W przypadku wątpliwości, czy komórka nadaje się do analizy, nie należy jej analizowa.

Wytyczne dotyczące analizy	
	Nie zlicza — jądra są za blisko siebie, aby można być okreli ich granice
	Nie zlicza jąder nakladajcych się na siebie — nie są widoczne całe obszary obu jąder
	Zliczy jako dwa sygnały czerwone — jeden z dwóch sygnałów czerwonych jest rozlany
	Zliczy jako dwa sygnały czerwone — przerwa widoczna w jednym czerwonym sygnale jest mniejsza niż dwie szerokości sygnału

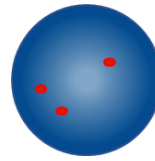
Wyniki oczekiwane

Oczekiwany wzorzec sygnału wskazujący na stan prawidłowy



W komórce prawidłowej oczekiwane są dwa sygnały czerwone (2C).

Oczekiwane wzorce sygnału wskazujące na stan nieprawidłowy



Oczekiwany wzorzec sygnału w komórce z trisomi chromosomu 12. to trzy sygnały czerwone (3C).

W przypadku próbek aneuploidalnych/z reorganizacj niezrównoważoną mogą wystpi inne wzorce sygnału.

Znana reaktywno krzyżowa

Sonda może wykazywa hybrydyzacj krzyżową względem regionów 3c, 6c, 7c i 10c.

Zgłaszanie zdarzeń niepoadanych

W przypadku podejrzenia nieprawidłowego działania tego wyrobu lub pogorszenia jego wsnoci użytkowych, które mogą przyczyni się do wystąpienia zdarzenia niepoadaneo (np. opznienia diagnozy lub postawienia błędnej diagnozy, opznienia leczenia lub podjecia niewłaściwego leczenia), należy bezwlocznie zgłosi ten fakt wytwórcy (e-mail: vigilance@otg.com).

Jeśli ma to zastosowanie, zdarzenie należy zgłosi także wsnoemu organowi krajowemu. Wykaz punktów kontaktowych ds. nadzoru nad produktami (ang. vigilance) jest dostępny na stronie: <http://ec.europa.eu/growth/sectors/medical-devices/contacts/>.

Specyficzne parametry skuteczności

Swoisto analityczna

Swoisto analityczna to odsetek sygnałów, które hybrydują do wsnoego locus i nie hybrydują do żadnej innej lokalizacji. Swoisto analityczną ustalono poprzez analiz łącznie 200 loci docelowych. Swoisto analityczną obliczano jako liczb sygnałów FISH zhybrydyzowanych do prawidłowego locus podzielon przez całkowitą liczb zhybrydyzowanych sygnałów FISH.

Tabela 1. Swoisto analityczna dla produktu Alpha Satellite 12 Plus for CLL

Sonda	Locus docelowe	L. sygnałów zhybrydyzowanych do prawidłowego locus	Łczna liczba zhybrydyzowanych sygnałów	Swoisto (%)
Czerwony D12Z3	12p11.1-q11.1	200	200	100

Czuo analityczna

Czuo analityczna to odsetek komórek interfazowych nadających się do oceny z oczekiwanym wzorcem sygnału wskazującym na stan prawidłowy. Czuo analityczną ustalono poprzez analiz komórek interfazowych w róznych próbkach prawidłowych. Czuo obliczano jako odsetek komórek nadających się do oceny, w których zaobserwowano oczekiwany wzorzec sygnału (z 95-procentowym przedziałem ufności).

Tabela 2. Czuo analityczna dla produktu Alpha Satellite 12 Plus for CLL

L. komórek z oczekiwanym wzorcem sygnału	L. komórek z sygnałami nadającymi się do oceny	Czuo (%)	95-procentowy przedział ufności
487	500	97,4	1,0

Charakterystyka wartości odcięcia dla stanu prawidłowego

Wartoc odcięcia dla stanu prawidłowego, określana w odniesieniu do sond FISH, to maksymalny odsetek komórek interfazowych nadających się do oceny, dla których obserwowany jest określony wzorzec sygnału charakterystyczny dla stanu nieprawidłowego, przy którym próbka jest uznawana za prawidłową pod względem tego wzorca sygnału.

Wartoc odcięcia dla stanu prawidłowego ustalono przy użyciu próbek pobranych od pacjentów ze stanem prawidłowym i pacjentów dodatnich względem badanej reorganizacji. Dla każdej próbki zarejestrowano wzorzec sygnału dla 100 komórek. W celu określenia wartości progowej, dla której uzyskiwana jest maksymalna wartośc czuo + swoisto-1, obliczono indeks Youdena.

Tabela 3. Charakterystyka wartości odcięcia dla stanu prawidłowego dla produktu Alpha Satellite 12 Plus for CLL

Wzorzec sygnału wskazujący na stan nieprawidłowy	Indeks Youdena	Wartoc odcięcia dla stanu prawidłowego (%)
3C	0,99	3

Laboratoria musz zweryfikowa wartości odcięcia w oparciu o wsne dane^{5, 6}.

Precya i odtwarzalno

Precya to miara naturalnej zmienności wyników testu przy wielokrotnym powtarzaniu testu w tych samych warunkach. Miar t oceniono poprzez analiz powtórzeń wykonanych przy użyciu produktu zawierającego sondy o tym samym numerze serii, który wykorzystywano do badań jednej próbki, w niezmiennych warunkach, w ramach jednego dnia.

Odtwarzalność to miara zmienności testu, którą ustalono w kategoriach zmienności między próbkami, między dniami i między seriami. Odtwarzalność między dniami oceniano poprzez analizę tych samych próbek w trzech różnych dniach. Odtwarzalność między seriami oceniano poprzez analizę tych samych próbek w ramach jednego dnia przy użyciu produktu zawierającego sondy o trzech różnych numerach serii. Odtwarzalność między próbkami oceniono poprzez analizę trzech powtórzeń każdej próbki w ramach jednego dnia. Dla każdej próbki rejestrowano wzorce sygnału obserwowane w 100 komórkach interfazowych i obliczano odsetek komórek, w których zaobserwowano oczekiwany wzorec sygnału.

Odtwarzalność i precyzję obliczono jako odchylenie standardowe (STDEV) między powtórzeniami dla każdej zmiennej i ogólnie średnie STDEV.

Tabela 4. Odtwarzalność i precyzja dla produktu Alpha Satellite 12 Plus for CLL

Zmienna	Odchylenie standardowe (STDEV)
Precyzja	0,72
Między próbkami	0,89
Między dniami	0,51
Między seriami	1,27
Odchylenie ogółem	1,15

Skuteczność kliniczna

Skuteczność kliniczną ustalono na reprezentatywnej próbce docelowej populacji pacjentów. Dla każdej próbki zarejestrowano wzorec sygnału dla ≥ 100 komórek interfazowych. Status prawidłowy/nieprawidłowy określano poprzez porównanie odsetka komórek z określonym wzorcem sygnału wskazujący na stan nieprawidłowy do wartości odcięcia dla stanu prawidłowego. Wyniki porównano następnie ze znanym statusem próbki.

Wyniki danych klinicznych poddano analizie w celu uzyskania wartości czułości, swoistości i wartości odcięcia, stosując podejście jednowymiarowe.

Tabela 5. Skuteczność kliniczna dla produktu Alpha Satellite 12 Plus for CLL

Zmienna	Wynik
Czułość kliniczna (odsetek wyników prawdziwie dodatnich (True Positive Rate, TPR))	100%
Swoistość kliniczna (odsetek wyników prawdziwie ujemnych (True Negative Rate, TNR))	100%
Odsetek wyników fałszywie dodatnich (False Positive Rate, FPR) = 1 – swoistość	0%

Dodatkowe informacje

W celu uzyskania dodatkowych informacji na temat produktu należy skontaktować się z działem wsparcia technicznego firmy CytoCell.

Tel.: +44 (0)1223 294048

E-mail: techsupport@cytoCELL.com

Strona WWW: www.ogt.com

Piśmiennictwo

1. Swerdlow *et al.*, (eds.) WHO Classification of Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissue, Lyon, France, 4th edition, IARC, 2017
2. Puiggros *et al.*, Biomed Res Int 2014;1-13
3. Rossi *et al.*, Blood 2013;121(8):1403-1412
4. Arsham, MS., Barch, MJ. and Lawce HJ. (eds.) (2017) *The AGT Cytogenetics Laboratory Manual*. New Jersey: John Wiley & Sons Inc.
5. 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.
6. 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.

Objaśnienie symboli

REF	pl: Numer katalogowy
IVD	pl: Wyrób medyczny do diagnostyki <i>in vitro</i>
LOT	pl: Kod partii
	pl: Zajrzyj do instrukcji używania
	pl: Wytwórca
	pl: Użyć do daty
	pl: Dopuszczalna temperatura

	pl: Trzymać z dala od światła słonecznego
	pl: Zawartość wystarczająca do <n> testów
CONT	pl: Zawartość

Patenty i znaki towarowe

CytoCell jest zastrzeżonym znakiem towarowym firmy CytoCELL Ltd.



CytoCELL Ltd.

Oxford Gene Technology,
418 Cambridge Science Park,
Milton Road,
Cambridge, CB4 0PZ, UK
Tel.: +44(0)1223 294048
Faks.: +44(0)1223 294986
E-mail: probes@cytoCELL.com
Strona WWW: www.ogt.com