



A Sysmex Group Company



## Kasutusjuhend

REF: LPH 017-S / LPH 017

## Sond P53 (TP53) Deletion Probe



AINULT ERIALASEKS KASUTAMISEKS



www.cytoCELL.com

Lisateave ja muud keeled on saadaval aadressil [www.ogt.com](http://www.ogt.com)

### Piirangud

Seade on loodud tuvastama genoomilisi kadusid, mis on suuremad kui sondikomplekti punase kloni kaetud piirkond, mis sisaldab piirkonda P53 (TP53). Piirkonnast väljapoole jäävaid genoomilisi kadusid või piirkonna osalisi kadusid ei pruugita selle tootega tuvastada.

See analüüs pole ette nähtud kasutamiseks iseseisva diagnostilise vahendina, prenataalseks analüüsimiseks, populatsioonipõhiseks skriininguks, patsiendilähedaseks analüüsimiseks või iseenalal analüüsimiseks. See toode on ette nähtud vaid erialaseks laboratoorseks kasutamiseks; kõiki tulemusi tuleks tõlgendada vastava väljaõppega personali poolt võttes arvesse teisi asjakohaseid analüüsitulemusi.

Seda toodet ei ole valideeritud kasutamiseks muude proovitüüpide ega haigustüüpide korral, kui ainult nende, mis on kasutusotstarbes täpsustatud.

FISH-i tulemuste tõlgendamine ja teavitamine peab vastama erialastele kutsestandarditele ja peaks arvesse võtma muud kliinilisi ja diagnostilisi teavet. See komplekt on ette nähtud muude laboratoorsete analüüside täiendamiseks ja ravi ei tohiks alustada, põhinedes vaid FISH-i tulemustel.

Protokolli järgimata jätmine võib mõjutada analüüsi toimivust ja põhjustada valepositiivseid/negatiivseid tulemusi.

Seda komplekti ei ole valideeritud kasutamiseks muul kui kasutusotstarbes esitatud eesmärgil.

### Kasutusotstarve

Sond CytoCell P53 (TP53) Deletion Probe on kvalitatiivne, mitteautomaatne, fluorestsents *in situ* hübriidsatsiooni (FISH) uuring, mida kasutatakse 17. kromosoomi 17p13 piirkonna kromosomaalsete deletsioonide tuvastamiseks Carnoy lahuses (3:1 metanool/atseethape) fikseeritud hematoloogilist tuletatud rakususpensioonides, mis pärinevad kinnitatud või kahtlustatud ägeda müeloidse leukeemia (AML), ägeda lümfoblastse leukeemia (ALL), kroonilise lümfotsütaarse leukeemia (CLL), hulgmüeloomi (MM) või mitte-Hodgkini lümfoomiga (NHL) patsientidelt.

### Näidustused

See toode on loodud täiendusena teistele kliinilistele ja histopatoloogilistele uuringutele tunnustatud diagnostilistes ja kliinilistes raviteedes, kus teadmised P53 (TP53) deletsiooni oleku kohta on kliinilise ravi seisukohalt olulised.

### Analüüsi põhimõte

Fluorestsents *in situ* hübriidsatsiooni (FISH) on meetod DNA järjestuste tuvastamiseks metafaasi kromosoomides või fikseeritud tsütogeneetiliste proovide interfaasi tuumades. Meetod kasutab DNA sonde, mis hübriidseeritakse kogu kromosoomi või üksiku unikaalse järjestusega ning toimib G-vöödi tsütogeneetilise analüüsi võimeka täiendusena. Seda meetodit saab nüüd rakendada prenataalse, hematoloogilise ja tahke kasvaja kromosomaalse analüüsi esmatahtsa uuringu tööriistana. Fikseeritud ja denatureeritud sihtmärk-DNA on saadaval sarnase denatureeritud, fluorestsentsmarkeriga DNA sondiga paardumiseks, millel on komplementaarne järjestus. Peale hübriidseerimist eemaldatakse seondumata ja ebaspetsiifiliselt seotud DNA sond ning DNA visualiseeritakse vastandvärvimisega. Seejärel võimaldab fluorestsentsmikroskoopia hübriidseeritud sondi visualiseerimist sihtmärkmaterjalil.

### Sondi teave

TP53 (tuumorivalk p53) geen asukohas 17p13.1 on tuumorsupressorgeen, mille kohta on tõestatud, et see on kustutatud inimeste paljude pahaloomuliste protsesside puhul.

TP53 geen on üks olulisemaid tuumorsupressorgeene. See toimib tugeva transkriptsioonifaktorina, millel on põhiline roll geneetilise stabiilsuse säilitamisel. TP53 kao suhtes skriinimine on tähtis, kuna TP53 piirkonda sisaldava 17. kromosoomi lühikese öla deletsioone või kadusid on leitud paljude vähkide puhul ja neid seostatakse sageli haiguse progresseerumise, halvema ravivastuse ja/või halva prognoosiga.

Täpsemalt on leitud TP53 kadu 10% kroonilise lümfotsütaarse leukeemiaga (CLL) patsientidel ja seda peetakse haiguse halvima prognoosiga markeriks<sup>1,2</sup>. Ägeda müeloidse leukeemia (AML) ja ägeda lümfotsütaarse leukeemia (ALL) puhul seostatakse TP53 kadu negatiivse tulemiga ja seda peetakse sageli haiguse progresseerumise või sekundaarse haiguse markeriks<sup>3-5</sup>.

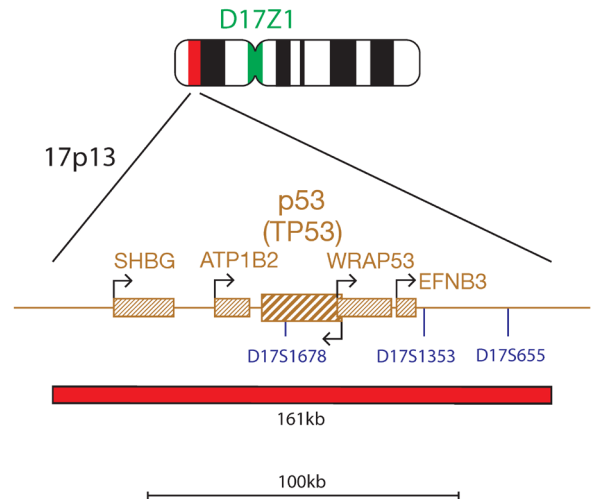
Hulgmüeloomiga patsientide on TP53 kadu hiline sündmus, mille puhul peetakse seda haiguse progresseerumise markeriks ja seostatakse seda väga halva prognoosiga<sup>6,7</sup>.

Mitte-Hodgkini lümfoomide puhul on TP53 kadusid leitud difuusse suureerakulise B-lümfoomiga (DLBCL), mis on sageli osa „topeltlöögi“ lümfoomist või plasmablastsetest fenotüüpidest<sup>8</sup>. Mantelrakuliste lümfoomi (MCL) puhul seostatakse TP53 kadusid negatiivse tulemiga ja väga halva tulemiga, kui see esineb koos samaaegsete CDKN2A deletsioonidega<sup>9</sup>.

### Sondi spetsifikatsioon

P53, 17p13, punane

D17Z1, 17p11.1-q11.1, roheline



p53 (TP53) sond on punasega märgistatud 161 kb ja see katab kogu p53 (TP53) geeni ja piirnevaid piirkondi. Sondisegu sisaldab ka roheline märgistatud 17. tsentromeeri (D17Z1) kontrollsondi.

### Tarnitavad materjalid

**Sond** 50 µl viaali kohta (5 analüüsi) või 100 µl viaali kohta (10 analüüsi)

Sondid tarnitakse eelsegatuna hübriidseerimislahuses (formamiid; dekstraansulfaat; naatriumsitraadi soolalahus (saline-sodium citrate, SSC)) ja on valmis kasutamiseks.

**Vastandvärv** 150 µl viaali kohta (15 analüüsi)

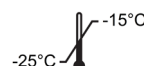
Vastandvärv on DAPI, pleekimisvastane (Sisaldus: 0,125 µg/ml DAPI (4,6-diamidino-2-fenüülindool).

### Hoiatused ja ettevaatusabinõud

1. *In vitro* diagnostiliseks kasutamiseks. Ainult erialaseks kasutamiseks.
2. DNA sondide ja DAPI vastandvärv käsitsemisel kandke kindaid.
3. Sondi segud sisaldavad formamiidi, mis on teratogeenne; ärge hingake sisse auru ning vältige kontakti nahaga. Käsitsege ettevaatlikult; kasutage kindaid ja laborikilti.
4. DAPI on potentsiaalne kartsinogeen. Käsitsege ettevaatlikult; kasutage kindaid ja laborikilti.
5. Vabanegige kõigist ohtlikest jäätmetest oma asutuse ohtlike jäätmete käitlemise eeskirjade kohaselt.
6. Kasutajad peavad olema suutelised eristama punast, sinist ja rohelist värvi.
7. Esitatud protokoll ja reaktiivide järgimata jätmine võib mõjutada analüüsi toimivust ja põhjustada valepositiivseid/valenegatiivseid tulemusi.
8. Sondi ei tohiks lahjendada ega segada teiste sondidega.
9. Sondi 10µl kasutamata jätmine protokoll denatureerimiseesises etapis võib mõjutada analüüsi toimivust ja põhjustada valepositiivseid/valenegatiivseid tulemusi.

### Säilitamine ja käsitsemine

Komplekti tuleks säilitada külmutatuna temperatuurivahemikus -25...-15 °C kuni kehtivusaaja lõpuni, mis on esitatud toote etiketil. Sondi ja vastandvärv viaale tuleb säilitada pimedas.





Sond säilitab stabiilsuse normaalse kasutamise ajal esinevate sulatamise ja külmutamise tsükli kestel (kus üks tsüklil kestab sondi eemaldamisest külmikust kuni sinna tagasipanekuni) ja on fotostabiilne kuni 48 tundi peale pideva valgusega kokkupuudet. Piirake iga hinna eest kokkupuudet valgusega ja temperatuurimuutustega.

### Seadmed ja materjalid mis on vajalikud, kuid mida ei tarnita

Kasutada tuleb kalibreeritud seadmeid.

1. Kuumutusplaat (täisplaadi ja täpse temperatuuriregulaatoriga kuni 80 °C)
2. Kalibreeritud erineva mahuga mikropipetid ja otsikud vahemikus 1–200 µl
3. Vesivann, täpse temperatuuriregulaatoriga 37 °C ja 72 °C juures
4. Mikrotsentrifuugi katsutid (0,5 ml)
5. Fluorestsentsmikroskoop (vt fluorestsentsmikroskoobi soovitude lõiku)
6. Faasikontrastmikroskoop
7. Läbipaistvast plastist, keraamilised või kuumakindlast klaasist Coplini anumad
8. Pintsetid
9. Kalibreeritud pH-meeter (või pH indikaatorribad vahemikus pH 6,5–8,0)
10. Niiskuskamber
11. Fluorestsentsmikroskoobi immersioonõli
12. Tsentrifuug
13. Mikroskoobi alusklaasid
14. 24×24 mm katteklasisid
15. Taimer
16. 37 °C inkubaator
17. Katteklaasi liim
18. Vortex-segisti
19. Gradueeritud silindrid
20. Magnetsegisti
21. Kalibreeritud termomeeter

### Valikulised seadmed, mida ei tarnita

1. Tsütogeneetiline kuivatuskamber

### Vajalikud reaktiivid, mida ei tarnita

1. 20-kordne naatriumsitraadi soolalahus (SSC)
2. 100%-line etanool
3. Tween-20
4. 1M naatriumhüdroksiid (NaOH)
5. 1M vesinikloriid (HCl)
6. Destilleeritud vesi

### Fluorestsentsmikroskoobi soovitus

Kasutage optimaalseks visualiseerimiseks 100-vatist elavhõbelampi või sellega samaväärset ning immersioonõliga apokromaatset objektiivi 60/63-kordse või 100-kordse suurendusega. Selles sondi komplektis kasutatud fluorofoorid aktiveeruvad ja emiteerivad järgnevatel lainepikkustel:

Fluorofoor	Eksitatsioon <sub>max</sub> [nm]	Emissioon <sub>max</sub> [nm]
Roheline	495	521
Punane	596	615

Veenduge, et asjakohased eksitatsiooni- ja emissioonifiltrid, mis hõlmavad eespool esitatud lainepikkusi, on mikroskoopi paigaldatud. Kasutage kolme spektri läbilaskevõimega DAPI/roheline spektri/punase spektri filtrit või kahe spektri läbilaskevõimega roheline spektri/punase spektri filtrit roheline ja punase fluorofoori samaaegseks optimaalseks visualiseerimiseks.

Kontrollige enne kasutamist fluorestsentsmikroskoopi, et veenduda selle korrasolekus. Kasutage immersioonõli, mis on fluorestsentsmikroskoopiaks sobiv ja on madala autofluorestsentsiga. Vältige pleekimisvastase DAPI segamist immersioonõliga, kuna see segab signaali. Järgige tootja soovitusi lambi tööea ja filtrite vanuse kohta.

### Proovi ettevalmistamine

Komplekt on loodud kasutamiseks hematoloogiliselt tuletatud rakususpensioonidega, mis on fikseeritud Carnoy lahuses (3:1 metanool/atseethape) ja ette valmistatud vastavalt labori või asutuse eeskirjadele. Valmistage ette õhu käes kuivatatud mikroskoobi alusklaasid vastavalt tsütogeneetika standardprotseduuridele. AGT *Tsütogeneetika laborijuhend* sisaldab soovitusi proovi kogumise, kultuuri istutamise, kogumise ja slaidi tegemise kohta<sup>12</sup>.

### Lahuse ettevalmistamine

#### Etanooli lahused

Lahjendage 100% etanool destilleeritud veega, jälgides suhtarvu ja põhjalikult segades.

- 70%-line etanool – 7 osa 100%-list etanooli suhtes 3 osa destilleeritud vett
  - 85%-line etanool – 8,5 osa 100%-list etanooli suhtes 1,5 osa destilleeritud vett
- Säilitage lahuseid kuni 6 kuud toatemperatuuril õhukindlas nõus.

#### 2x SSC lahust

Lahjendage 1 osa 20-kordset SSC lahust 9 osa destilleeritud veega ja segage põhjalikult. Kontrollige pH-d ja kohandage, kuni pH on 7,0, kasutades NaOH või HCl vastavalt vajadusele. Säilitage lahust kuni 4 nädalat toatemperatuuril õhukindlas nõus.

#### 0,4 x SSC lahust

Lahjendage 1 osa 20-kordset SSC lahust 49 osa destilleeritud veega ja segage põhjalikult. Kontrollige pH-d ja kohandage, kuni pH on 7,0, kasutades NaOH või

HCl vastavalt vajadusele. Säilitage lahust kuni 4 nädalat toatemperatuuril õhukindlas nõus.

#### 2x SSC, 0,05% Tween-20 lahust

Lahjendage 1 osa 20-kordset SSC lahust 9 osa destilleeritud veega. Lisage 5 µl Tween-20 10 ml kohta ja segage põhjalikult. Kontrollige pH-d ja kohandage, kuni pH on 7,0, kasutades NaOH või HCl vastavalt vajadusele. Säilitage lahust kuni 4 nädalat toatemperatuuril õhukindlas nõus.

#### FISH-i protokoll

(Märkus. Veenduge, et sondi ja vastandvärvi kokkupuude labori valgustusega oleks kogu aeg piiratud).

#### Slaidi ettevalmistamine

1. Tilgutage rakuproov mikroskoobi klaasist alusklaasile. Laske kuivada. (**Valikuline, kui kasutatakse tsütogeneetilist kuivatuskambrit:** slaidid tuleks valmistada tsütogeneetilist kuivatuskambrit kasutades. Optimaalseks slaidi valmistamiseks tuleks kambrit kasutada temperatuuril ligikaudu 25 °C ja õhuniiskusel 50%. (Kui tsütogeneetiline kuivatuskamber ei ole kättesaadav, kasutage alternatiivina tõmbekappi).
2. Kastke slaidid toatemperatuuril 2 minutiks 2-kordsesse SSC lahusesse ilma segamata.
3. Dehüdrateerige etanoolilahuste seerias (70%, 85% ja 100%), igas 2 minutit toatemperatuuril.
4. Laske kuivada.

#### Enne denaturatsiooni

5. Eemaldage sond külmikust ja laske sel soojustada toatemperatuurile. Tsentrifugeerige katsuteid lühidalt enne kasutamist.
6. Veenduge, et sondi lahust on ühtlaselt segunenud, kasutades pipetti.
7. Eemaldage 10 µl sondi analüüsi kohta ja viige see mikrotsentrifuugi katsutisse üle. Tagastage ülejäänud sond kiiresti külmikusse.
8. Asetage sond ja proovislaid 5 minutiks kuumutusplaadile eelsoojenema temperatuurile 37 °C (+/-1 °C).
9. Tilgutage 10 µl sondisegu rakuproovile ja asetage ettevaatlikult katteklasisse. Lisage katteklasisse liim ja laske liimil täielikult kuivada.

#### Denaturatsioon

10. Denatureerige proov ja sond üheaegselt, kuumutades slaidi kuumutusplaadil temperatuuril 75 °C (+/-1 °C) 2 minutit.

#### Hübridisatsioon

11. Asetage slaid niiskesse valguskindlasse kambris temperatuurile 37 °C (+/-1 °C), laske seista üleöö.

#### Hübridisatsioonijärgsed pesud

12. Eemaldage DAPI külmikust ja laske soojustada toatemperatuurile.
13. Eemaldage ettevaatlikult katteklasisid ja kõik liimijäljed.
14. Kastke slaidid 2 minutiks ilma segamata 0,4-kordsesse SSC lahusesse (pH 7,0) temperatuuril 72 °C (+/-1 °C).
15. Kuivatage slaid ja kastke see 30 sekundiks ilma segamata 2-kordsesse SSC lahusesse, 0,05% Tween-20 lahusesse, toatemperatuuril (pH 7,0).
16. Kuivatage slaid ja lisage igale proovile 10 µl pleekimisvastast DAPI-d.
17. Katke katteklasisse, eemaldage mullid ja laske värvil pimedas kujuneda 10 minutit.
18. Vaadake fluorestsentsmikroskoobiga. (Vt **Fluorestsentsmikroskoobi soovitus**.)

#### Valmis slaidide stabiilsus

Valmis slaidid on analüüsivad kuni 1 kuu, kui neid hoitakse pimedas toatemperatuuril või alla selle.

#### Protseduuri soovitus

1. Slaidide keetmine või aegumine võib fluorestsentssignaali nõrgendada.
2. Cytocell Ltd poolt toodetud või soovitatud reaktiivide asemel muude reaktiivide kasutamine võib ebasoodsalt mõjutada hübridiseerimistingimusi
3. Kasutage lahuste, vesivannide ja inkubaatorite temperatuuri mõõtmisel kalibreeritud termomeetrit, sest need temperatuurid on toote optimaalseks toimimiseks kriitilise tähtsusega.
4. Pesukontsentratsioonid, pH ja temperatuurid on olulised, kuna vähene rangus võib põhjustada sondi ebaspetsiifilist sidumist ja liiga suur rangus võib põhjustada signaali puudumist
5. Mittetäielik denatureerimine võib põhjustada signaali puudumist ja üleliigne denatureerimine võib samuti põhjustada ebaspetsiifilist seondumist
6. Üleliigne hübridiseerimine võib põhjustada täiendavaid või ootamatuid signaale
7. Kasutajad peaksid enne analüüsi kasutamist diagnostilisel eesmärgil protokollil oma proovidega optimeerima
8. Suboptimaalsed tingimused võivad põhjustada ebaspetsiifilist seondumist, mida võidakse ekslikult sondi signaalina tõlgendada

#### Tulemuste tõlgendamine

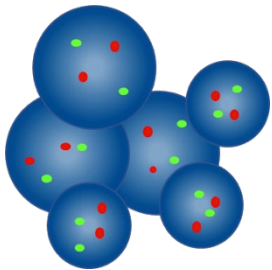
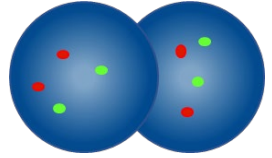
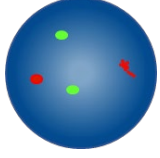
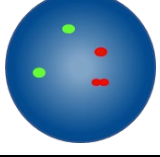
##### Slaidi kvaliteedi hindamine

Slaidi ei tohiks analüüsida, kui

- signaalid on ühe filtriga analüüsimiseks liiga nõrgad – analüüsi jätkamiseks peaksid signaalid olema eredad, selged ja lihtsalt hinnatavad;
- liiga palju kokkuleepunud/kattuivaid rakke segavad analüüsimist;
- üle 50% rakkudest pole hübridiseeritud;
- rakkude vahel on üleliigsed fluorestsentsosakesed ja/või fluorestsentshägu, mis segab signaali – optimaalsetel slaididel peaks taust tunduma tume või must ja puhas;
- rakutuuma piire ei saa eristada ja need pole terviklikud.

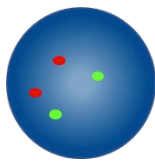
### Analüüsi eeskirjad

- Igat proovi peaks analüüsima ja tõlgendama kaks analüütikut. Kõik lahknemused tuleks lahendada kolmanda analüütiku hinnanguga
- Analüütikud peaks olema riiklikult tunnustatud standardite kohase väljaõppega.
- Iga analüütik peaks hindama eraldi 100 tuuma iga proovi kohta. Esimene analüütik peaks alustama slaidi vasakult küljelt ja teine analüütik paremalt küljelt.
- Iga analüütik peaks oma tulemused üles märkima eraldi andmekandjale.
- Analüüsige vaid terviklike tuumi, mitte kattuvaid või kokkuleepunud või tsütoplasma jääkidega kaetud ega autofluorestsereivaid tuumi.
- Vältige alasid, kus esineb liigseid tsütoplasma jääke või ebaspetsiifilist hübriidseerimist.
- Signaali tugevus võib vahelduda, isegi ühe tuuma piires. Sellistel juhtudel kasutage üksikfiltrid ja/või kohandage fokaaltasandit.
- Suboptimaalsete tingimuste korral võivad signaalid hajuda. Kui kaks sama värvi signaali puutuvad kokku või nendevaheline kaugus on väiksem kui kaks signaalipikkust või signaale ühendab ähmane niit, lugege signaalid üheks.
- Kui kahtlete, kas proov on analüüsiks sobiv, siis ärge analüüsige seda.

Analüüsi eeskirjad	
	Mitte lugeda, kui tuumad on piiride määramiseks üksteisele liiga lähedal
	Mitte lugeda kattuvaid tuumasid, sest mõlema tuumi kõik alasid ei ole näha
	Lugeda kahe punase signaalina ja kahe rohelise signaalina, kui üks kahest punasest signaalist on difuusne
	Lugeda kahe punase signaalina ja kahe rohelise signaalina, kui ühe punase signaali tühimik on kahest signaalipikkusest väiksem

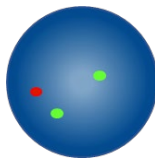
### Eeldatavad tulemused

#### Eeldatav normaalne signaalimuster



Normaalse raku eeldatav tulemus on kaks punast ja kaks rohelist signaali (2P, 2R).

#### Eeldatav ebanormaalne signaalimuster



P53 (TP53) deletsiooniga raku eeldatav signaalimuster üks punane ja kaks rohelist signaali (1P, 2R).

Aneuploidsete/tasakaalustamata proovides võivad esineda teised signaalimustrid.

### Teadaolev ristreaktiivsus

Roheline D17Z1 sond võib näidata risthübriidsatsiooni 11. kromosoomi ja X-i tsentromeetri suhtes.

### Kõrvalnähtudest teatamine

Kui usute, et see toode ei toimi või selle toimivus on halvenenud ning selle toimel võis esineda kõrvalnäht (nt hilinenud või valediagnoos, hilinenud või ebasobiv ravi), tuleb sellest tootjat kohe teavitada (**email**: [vigilance@ogt.com](mailto:vigilance@ogt.com)).

Kui see on kohandatav, tuleks sündmusest teavitada riiklikule pädevale asutusele. Pädevate ametiasutuste loend on esitatud lehel: <http://ec.europa.eu/growth/sectors/medical-devices/contacts/>.

### Spetsiifilised toimivuskarakteristikud

#### Analüütiline spetsiifilisus

Analüütiline spetsiifilisus on vaid õige lookusega hübriidseeritud signaalide protsentarv. Analüütiline spetsiifilisus saavutati kokku 200 sihtmärk-lookuse analüüsimisel. Analüütiline spetsiifilisus arutati, jagades õige lookusega hübriidseeritud FISH-i signaalide arvu kogu hübriidseeritud FISH-i signaali arvuga.

Tabel 1. Soni P53 Deletion Probe analüütiline spetsiifilisus

Sond	Sihtmärk-lookus	Õige lookusega hübriidseeritud signaalide arv	Hübriidseeritud signaalide koguarv	Spetsiifilisus (%)
Punane P53	17p13.1	200	200	100
Roheline D17Z1	17p11.1–q11.1	200	200	100

#### Analüütiline tundlikkus

Analüütiline tundlikkus on hinnatavate interfaasi rakkude protsent eeldatava normaalse signaalimustri suhtes. Analüütiline tundlikkus saavutati interfaasi rakkude analüüsimisel erinevates normaalsetes proovides. Tundlikkus arutati hinnatavate rakkude ja eeldatava signaalimustri protsentsuhtena (95%-lise usaldusvahemikuga).

Tabel 2. Soni P53 Deletion Probe analüütiline tundlikkus

Eeldatava signaalimustri rakkude arv	Hinnatava signaaliga rakkude arv	Tundlikkus (%)	95% usaldusvahemik
4902	5000	98,04	97,62—98,39

#### Normaalse väljaarvamise piirväärtuste kirjeldus

FISH-i sondidega seotud normaalse väljaarvamise piirväärtus on hinnatavate, teatud ebanormaalse signaalimustri interfaasi rakkude suurim protsent, mille juures proov hinnatakse normaalseks.

Normaalne väljaarvamise piirväärtus määrati proovidega, mis olid negatiivsed ümberkorralduse suhtes, mida sond peaks tuvastama, ja beeta-pöördfunktsiooniga. Iga proovi kohta salvestati 100 interfaasi raku signaalimustrid kahe sõltumatu analüütiku poolt, kokku 200 proovi kohta.

Tabel 3. Soni P53 Deletion Probe normaalse väljaarvamise piirväärtuste kirjeldus

Ebanormaalne signaalimuster	Väljaarvamise piirväärtuse loomiseks analüüsitud proovide arv	Proovi kohta hinnatud tuumade arv	Max valepositiivsete signaalimustrite arv	Normaalne väljaarvamise piirväärtus (%)
1R, 2G	1600	200	8	6,8

Laborid peavad oma andmete põhjal väljaarvamise piiri kinnitama<sup>13, 14</sup>.

#### Reprodutseeritavus

Reprodutseeritavus tehti kindlaks kolme eraldi labori poolt, kes testisid kuut pimedat proovi (kaks ümberpaigutamise suhtes negatiivset, kaks nõrgalt positiivset proovi, mis ületasid piirväärtust 1–3 korda, ja kaks tugevalt positiivset proovi, mis sisaldasid üle 45% ümberpaigutamise suhtes positiivseid rakke). Analüüs viidi läbi iga proovist kahe replikaadiga viiel järjestikusel päeval.

Kõik kolm asutust viisid läbi päevasise, päevadevahelise ja asutusevahelise testimise, kasutades ühte ja sama soni partiid, samas kui üks asutus teostas ka partiidevahelise reprodutseeritavuse testimise, kasutades kolme erinevat soni partiid.

Reprodutseeritavus arutati, kasutades katse ajal uuritud muutujate vahelist ühilduvust.

Tabel 4. Soni P53 Deletion Probe reprodutseeritavus

Reprodutseeritavuse uuring	Proov	Ühilduvus (%)
Päevasisene/päevadevaheline/asutustevaheline	Negatiivne	95
	Tugevalt positiivne	100
Partiidevaheline	Negatiivne	100
	Tugevalt positiivne	100

### Kliiniline toimivus

Kliiniline toimivus määrati, kasutades AML-i või MDS-i tõttu suunatud esindusliku valimata patsientide komplektiit kogutud 100 proovi. Sondiga tuvastatud ümberkorralduste esinemismäärasid võrreldi kirjandusallikate ülevaatest kogutud andmetega.

Selle võrdluse võimaldamiseks arvatati kirjanduses esitatud usaldusvahemik 100 proovi populatsiooni suuruse kohta, arvutades 1–proovi proportsioonide testi koos jätkuva korrigeerimisega.

Tabel 5. Sondi P53 Deletion Probe kliiniline toimivus

Ümberkorraldus	Levimus			
	Kirjanduse ülevaade (%)	95% LCI (%)	Asutus 1 (%)	95% UCI (%)
AML TP53 kaoga	4,0	1,3	5	10,5
MDS TP53 kaoga	0,6	0,0		5,6

### Lisateave

Lisateavet saate kontakteerudes ettevõtte CytoCell tehnilise toe osakonnaga.

**Tel:** +44 (0)1223 294048










**E-mail:** techsupport@cytoCELL.com

**W:** www.ogt.com

### Viited

- Rossi D, *et al.*, Blood. 2013 Feb 21;121(8):1403-12
- Baliakas P, *et al.*, Leukemia. 2014;(April):1-8
- Grimwade D, *et al.*, Br J Haematol. 2010; (3):17
- Seifert H, *et al.*, Leukemia. 2009;23(4):656-63
- Stengel A, *et al.*, Blood. 2014;124(2):251-8
- Palumbo A, *et al.*, J Clin Oncol. 2015 Sep 10;33(26):2863-9
- Fonseca R, *et al.*, Leukemia. 2009 Dec;23(12):2210-21
- Simonitsch-Klupp I, *et al.*, Leukemia. 2004 Jan;18(1):146-55
- Khayat AS, *et al.*, BMC Gastroenterol. 2009;9:55
- 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.

### Sümbolite seletus

<b>REF</b>	<b>et:</b> Kataloogi number
	<b>et:</b> <i>In vitro</i> diagnostiline meditsiiniseade
	<b>et:</b> Partii number
	<b>et:</b> Vt kasutusjuhised
	<b>et:</b> Tootja
	<b>et:</b> Kõlblik kuni
	<b>et:</b> Temperatuuripiirang
	<b>et:</b> Hoidke päikesevalguse eest kaitstult
	<b>et:</b> Sisaldus piisav <n> analüüsi jaoks
	<b>et:</b> Sisu

### Patendid ja kaubamärgid

CytoCell on CytoCell Ltd registreeritud kaubamärk.

### 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  
**W:** www.ogt.com

