



A Sysmex Group Company



Lietošanas instrukcija

REF: LPH 077-S/LPH 077

IGH/MAFB Plus 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 nosedz sarkanie un zaļie kloni šajā zonžu komplektā, kurā ietilpst *IGH* un *MAFB* reģioni. Izmantojot šo produktu, var netikt noteikti pārtraukumpunkti ārpus šī reģiona vai pārkārtojumu varianti, kas pilnībā ietilpst šajā reģionā.

Šis tests nav paredzēts: izmantošanai autonoma diagnostikas līdzekļa statusā, prenatalai 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.

FISH rezultātu uzrādīšana un interpretēšana ir jāveic atbilstoši profesionālajiem prakses standartiem, ņemot vērā citu klīnisko un diagnostisko informāciju. Šis komplekts ir izmantojams kā citu diagnostisko laboratorijas testu palīg līdzeklis, un lēmumus par terapiju nedrīkst pieņemt, balstoties tikai uz FISH 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 IGH/MAFB Plus Translocation, Dual Fusion Probe ir kvalitatīvs, neautomatizēts fluorescētās *in situ* hibridizācijas (fluorescence in situ hybridisation — FISH) tests, kas paredzēts hromosomālo pārkārtojumu noteikšanai starp 14. hromosomas reģionu 14q32.3 un 20. hromosomas reģionu 20q12 Karnuā šķīdumā (3:1 metanols/etiķskābe) fiksētās hematoloģiski iegūtās šūnu suspensijās no pacientiem, kuriem ir konstatēta multiplā mieloma (MM) vai pastāv aizdomas par tās esamību.

Indikācijas

Šo izstrādājumu ir paredzēts izmantot kā citu klīnisko un histopatoloģisko testu papildinājumu atzītās diagnostikas un klīniskās aprūpes metodēs, kurās informācija par *IGH:MAFB* translokācijas statusu ir svarīga klīniskajai pārvaldībai.

Testa principi

Fluorescences *in situ* hibridizācija (fluorescence in situ hybridisation — FISH) ir metode, kas ļauj noteikt DNS sekvences metafāzu 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 DNS zondi ar fluorescēntu marķējumu, kurai ir papildu sekvence. Pēc hibridizācijas nesaisītā un nespecifiski saistītā DNS zonde tiek aizvākta un DNS tiek kontrastēta vizualizācijai. Pēc tam, izmantojot fluorescences mikroskopiju, hibridizēto zondi var vizualizēt mērķa materiālā.

Informācija par zondi

MAFB bZIP transkripcijas faktora B (*MAFB*) gēna atrašanās vieta ir 20q12, savukārt *imūnglobulīna smagās ķēdes lokusa (immunoglobulin heavy locus — IGH)* gēna atrašanās vieta ir 14q32.3

Aptuveni 50–60% multiplās mielomas (MM) gadījumu ir saistīti ar translokācijām, kurās iesaistīts *IGH* un viens no vairākiem partneriem, tostarp *CCND1*, *NSD2* (*MMSET*) un *FGFR3*, *CCND3*, *MAF* vai *MAFB*¹.

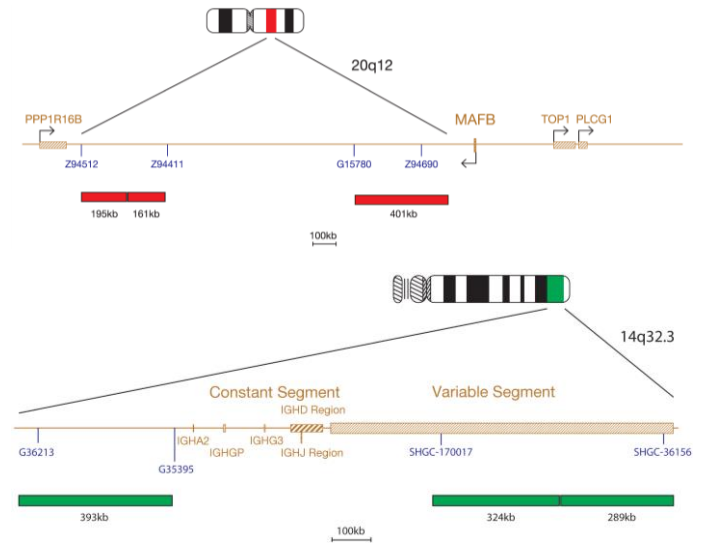
Jānorāda, ka t(14;20)(q32.3;q12) translokācija ir atkārtota translokācija, kas konstatējama aptuveni 2% MM gadījumu^{2,3}.

Savstarpējo pārkārtojumu radītā nošķelta *IGH* μ pastiprinātāja (Eμ, novietots starp savienojošajiem (J) segmentiem un *IGH* gēna konstanto reģionu) forma nonāk ciešā saskarē ar *MAFB* gēnu⁴. Ir konstatēts, ka rezultātā iegūtā fūzija un augšupregulētās transkripcijas produkts izraisa ciklīna D2 regulācijas traucējumus¹.

Tiek uzskatīts, ka t(14;20)(q32.3;q12) iznākuma prognoze ir tāda paša kā t(14;16)(q32.3;q23) gadījumā³.

Zondes specifika

MAFB, 20q12, sarkana
IGH, 14q32.3, zaļa



IGH/MAFB Plus produktā ietilpst zondes, marķētas zaļā krāsā, kas atrodas proksimāli *IGH* reģiona konstantajam segmentam un šī reģiona mainīgajā segmentā, kā arī *MAFB* zondes (195 kb, 161 kb un 401 kb), kas marķētas sarkanā krāsā. *MAFB* zondes ir izvietotas katrā pārtraukumpunktu reģiona pusē (starp *MAFB* un *PPP1R16B*).

Nodrošinātie materiāli

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

Zondes tiek nodrošinātas iepriekš sajauktā veidā hibridizācijas šķīdumā (formamīds; dekskābe sulfāts; citrāta fizioloģiskais šķīdums (salīne-sodium citrate — SSC)) un ir gatavas lietošanai.

Kontrasta krāsviela: 150 μl flakonā (15 testi)

Kontrasta krāsviela ir DAPI fluorescences uzturēšanas šķīdums (ES: 0,125 μg/ml DAPI (4,6-diamidino-2-fenilīndols)).

Brīdinājumi un piesardzības pasākumi

- Lietošanai *in vitro* diagnostikā. Tikai profesionālai lietošanai.
- Apejoties ar DNS zondēm un DAPI kontrasta krāsvielu, valkājiet cimdus.
- 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.
- DAPI ir potenciāli kancerogēna viela. Rīkojieties ar to piesardzīgi; valkājiet cimdus un laboratorijas virsvalku.
- Atbrīvojieties no visām bīstamajām vielām atbilstoši jūsu iestādē spēkā esošajam vadlīnijām attiecībā uz bīstamu atkritumu utilizāciju.
- Operatoriem jāspēj atšķirt sarkano, zilo un zaļo krāsu.
- Neievērojot norādīto protokolu un norādījumus par reaģentiem, var tikt ietekmēta veikspēja un iegūti kļūdaini pozitīvi/negatīvi rezultāti.
- Zondi nedrīkst atšķaidīt vai veidot maisījumus ar citām zondēm.
- Ja protokola iepriekšējās denaturēšanas fāzes laikā netiek izmantoti 10 μl zondes, var tikt ietekmēta veikspēja un iegūti kļūdaini pozitīvi vai kļūdaini negatīvi rezultāti.

Uzglabāšana un lietošana

—15°C Komplekts ir jāglabā saldētavā temperatūrā no -25 °C līdz -15 °C līdz pat derīguma termiņa beigai datumam, kas norādīts uz komplekta etiķetes. 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 pastāvīgā apgaismojumā. Ir jādara viss iespējams, lai ierobežotu gaismas un temperatūras svārstību ietekmi.

Aprikojums un materiāli, kas ir nepieciešami, bet nav iekļauti komplektācijā

Ir jāizmanto kalibrēts aprikojums:

1. Sildierīce (ar cieta sildvirsmu un precīzu temperatūras regulēšanu līdz pat 80 °C)
2. Kalibrētas mainīga 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. Fluorescences mikroskops (sk. sadaļu "Uz fluorescences mikroskopu attiecināmie ieteikumi")
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. Fluorescencei 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 sālsskābe (HCl)
6. Attīrīts ūdens

Uz fluorescences 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 _{max} [nm] | Izstarošana _{max} [nm] |
|------------|-----------------------------|---------------------------------|
| Zaļš | 495 | 521 |
| Sarkans | 596 | 615 |

Pārliecinieties, vai mikroskops ir aprīkots ar iepriekš norādītajiem viļņu 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 fluorescences mikroskopu, lai pārliecinātos, vai tas darbojas pareizi. Izmantojiet iegremdēšanas eļļu, kas piemērota fluorescences mikroskopijai un nodrošina zemu automatiskās fluorescences līmeni. Izvairieties no fluorescences uzturēšanas līdzekļa ar DAPI sajaukšanās ar mikroskopa iegremdēšanas eļļu, jo pretējā gadījumā radīsies signāla traucējumi. Ritkojieties atbilstoši ražotāja ieteikumiem attiecībā uz lampas un filtru kalpošanas ilgumu.

Paraugu sagatavošana

Šo komplektu ir paredzēts izmantot ar hematoloģiski iegūtām šūnu suspensijām, kas fiksētas Karnuā šķīduma (metanols/etiķskābe 3:1) fiksatorā un sagatavotas atbilstoši laboratorijā vai iestādē spēkā esošajām vadlīnijām. Sagatavojiet gaisā nožāvētus paraugus uz mikroskopa priekšmetstikliņiem atbilstoši standarta citoģenētiskajam procedūram. AGT *citoģenētikas laboratorijas rokasgrāmā* ir ietverti ieteikumi par paraugu ņemšanu, kultūras iegūvi, ievākšanu un priekšmetstikliņu sagatavošanu².

Šķīdumu sagatavošana

Etanola šķīdumi

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

- 70% etanols — 7 daļas 100% etanola un 3 daļas attīrīta ūdens
- 85% etanols — 8,5 daļas 100% etanola un 1,5 daļas attīrīta ūdens

Glābāji 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 nedēļu 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 nedēļu 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 nedēļu ilgumā istabas temperatūrā hermētiski noslēdzamā konteinerā.

FISH 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.

Iepriekšēja denaturēšana

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. 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 iepriekšēju sildīšanu 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.

Hibrizācija

11. Ievietojiet priekšmetstikliņu gaismu necaurlaidīgā konteinerā ar mitru vidi un atstājiet to 37 °C (+/- 1 °C) temperatūrā līdz nākamajai dienai.

Skalošana pēc hibrizācijas

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 fluorescences uzturēšanas līdzekli ar DAPI.
17. Uzlieciet segstikliņu, likvidējiet burbulus un ļaujiet krāsai tumsā attīstīties 10 minūtes.
18. Skatiet fluorescences mikroskopā (sk. **Uz fluorescences mikroskopu attiecināmie ieteikumi**).

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 fluorescenci.
2. Tādu reaģentu izmantošana, kas nav uzņēmuma Cytocell Ltd. nodrošinātie vai ieteiktie reaģenti, var nelabvēlīgi ietekmēt hibrizācijas apstākļus.
3. Šķīdumu, ūdens vannu un inkubatoru temperatūras mērīšanai jāizmanto kalibrēts termometrs, jo norādītās temperatūras ievērošana ir kritiski svarīga produkta optimālas veiktspējas nodrošināšanai.
4. Skalošanas šķīdumu koncentrācijas, pH un temperatūras vērtības ir svarīgas, jo pārāk augstas intensitātes gadījumā iespējama nespecifiska zondes sasaiste, savukārt pārāk mazas intensitātes gadījumā var trūkt signāla.
5. Nepilnīga denaturēšana var izraisīt signāla nepietiekamību, savukārt pārmērīga denaturēšana arī var izraisīt nespecifisku sasaisti.
6. Pārmērīga hibrizācijas 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

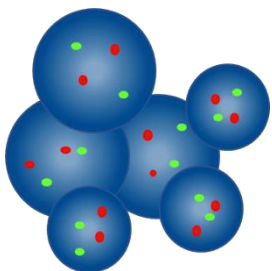
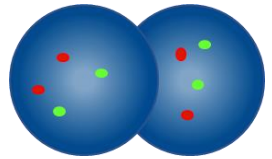
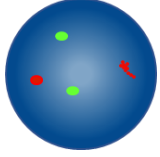
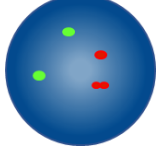
Paraugu nedrīkst analizēt tālāk norādītajos gadījumos.

- Signāli ir pārāk vāji analizēšanai atsevišķos filtros — lai veiktu analīzi, signāliem jābūt spilgtiem, labi izšķiramiem un viegli novērtējamiem.
- Ir daudz salīpušu/pārkļājošu šūnu, kas traucē veikt analīzi.

- >50% šūnu nav hibridizētas.
- Starp šūnām atrodas pārāk daudz fluorescences daļiņu un/vai fluorescences dūmakas, kas rada signāla traucējumus, — optimālā priekšmetstiklīnā ar paraugu fonam jābūt tumšam vai melnam un tīram.
- Šūnu kodolu robežas nav izšķiramas un nav veselās.

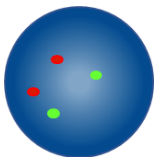
Uz analīzi attiecināmās vadlīnijas

- 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 jāskatās analīze no priekšmetstiklīnā kreisās puses, savukārt otram laboratorijas speciālistam — no priekšmetstiklīnā labās puses.
- Katram laboratorijas speciālistam jādokumentē savi rezultāti atsevišķās lapās.
- Ir jāanalizē tikai veseli kodoli, nevis pārklājošies kodoli, sablīvējušies kodoli vai kodoli, kurus sedz citoplazmatiskās atliekas vai augsta līmeņa automātiskā fluorescences.
- 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 attālumus 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 |

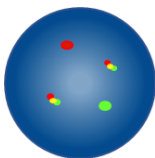
Paredzamie rezultāti

Paredzamais normālu signālu modelis



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

Paredzamais normai neatbilstošo signālu modelis



Šūnā ar t(14;20)(q32;q12) translokāciju paredzamais signālu modelis ir viens sarkans, viens zaļš un divas fūzijas (1S, 1Z, 2F).

Citi signālu modeļi ir iespējami aneiploīdos/neļīdsvartos paraugos. Ņemiet vērā, ka citu tādu IGH pārkārtojumu gadījumā, kas nav IGH/MAFB translokācija, zaļais IGH signāls var izskatīties sadalīts.

Zināmā krusteniskā reakcija

Zaļā IGH zonde var uzrādīt krustenisko hibridizāciju ar 15q11.2 un 16p11.2.

Ziņošana par nevēlamiem notikumiem

Ja uzskatāt, ka ir radušies šīs ierīces darbības traucējumi vai tās veiktspējas rādītāji ir pasliktinājušies, iespējami izraisot nelabvēlīgu notikumu (piemēram, novēlotu vai nepareizu diagnozi, novēlotu vai nepiemērotu terapiju), par to nekavējoties jāziņo ražotājam (**e-pasts**: 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, FISH signālu, kas hibridizējās ar pareizo lokusu, skaitu izdalot ar hibridizēto FISH signālu kopskaitu.

1. tabula. Zondes IGH/MAFB Plus Translocation, Dual Fusion Probe analītiskais specifiskums

| Zonde | Mērķa lokuss | Ar pareizo lokusu hibridizēto signālu skaits | Hibridizēto signālu kopskaits | Specifiskums (%) |
|--------------|--------------|--|-------------------------------|------------------|
| Sarkana MAFB | 20q12 | 200 | 200 | 100 |
| Zaļā IGH | 14q32.33 | 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 IGH/MAFB Plus Translocation, Dual Fusion Probe analītiskais jutīgums

| Šūnu ar paredzamiem signālu modeļiem skaits | Šūnu ar novērtējamiem signāliem skaits | Jutīgums (%) | 95% ticamības intervāls |
|---|--|--------------|-------------------------|
| 464 | 500 | 92,8 | 1 |

Normalitātes robežvērtību raksturojums

Uz FISH zondēm attiecināmā normāla robežvērtība ir novērtējamo interfāzes šūnu ar specifisku normai neatbilstošu 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 IGH/MAFB Plus Translocation, Dual Fusion Probe normalitātes robežvērtību raksturojums

| Normai neatbilstošo signālu modelis | Jūdena indekss | Normalitātes robežvērtība (%) |
|-------------------------------------|----------------|-------------------------------|
| 1S, 1Z, 2F | 0,99 | 4 |

Laboratorijām jāveic robežvērtību verifikācija, izmantojot savus datus^{6, 7}.

Precizitāte un reproducējamība

Precizitāte ir testa dabīgo atšķirību rādītājs, testu atkārtotot 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 mainīguma rādītājs un ir noteikta, ņemot vērā dažādu paraugu, dažādu dienu un dažādu partiju mainīgumu. 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. Dažādu paraugu 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 IGH/MAFB Plus Translocation, Dual Fusion Probe reproducējamība un precizitāte

| Mainīgais | Standartnovirze (STDEV) |
|-------------------|-------------------------|
| Precizitāte | 0,00 |
| Dažādi paraugi | 0,00 |
| Dažādas dienas | 0,00 |
| Dažādas partijas | 0,00 |
| Vispārīgā novirze | 0,00 |

Klīniskā veikspēja

Klīniskā veikspēja tika noteikta, izmantojot produkta paredzēto populāciju reprezentējošu paraugu. Katram paraugam tika reģistrēti ≥ 100 interfāzes šūnu signālu modeļi. Normāls/normai neatbilstošs rādītājs tika noteikts, salīdzinot šūnu ar specifisku normai neatbilstošu signālu modeli procentuālo vērtību ar normālu 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 IGH/MAFB Plus Translocation, Dual Fusion Probe klīniskā veikspēja

| 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-pasta adrese: techsupport@cytoCELL.com

Timekļa vietne: www.ogt.com

Atsauces

- Fonseca *et al.*, Cancer Research 2004;64:1546-1558
- Fonseca *et al.*, Leukemia 2009;23(12):2210-2221
- Sawyer, Cancer Genetics 2011;204(1):3-12
- Boersma-Vreugdenhil *et al.*, Br J Haematol 2004;126:355-63
- 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> diagnostikas medicīniskā ierīce |
| LOT | Iv: Partijas kods |
|  | Iv: Skatīt lietošanas instrukciju |
|  | Iv: Ražotājs |
|  | Iv: Derīguma termiņš |
|  | Iv: Temperatūras ierobežojums |
|  | Iv: Sargājiet no tiešiem saules stariem |
|  | Iv: Saturs ir pietiekams <n> testiem |
| CONT | Iv: Saturs |

Patenti un preču zīmes

CytoCell ir reģistrēta CytoCELL Ltd. 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-pasta adrese: probes@cytoCELL.com
Timekļa vietne: www.ogt.com