



A Sysmex Group Company



Návod k použití

REF: LPH 101-S / LPH 101

Translokační/dvoufúzní sonda IGH/MAF v2



POUZE K PROFESIONÁLNÍMU POUŽITÍ



www.cytoCELL.com

Další informace a více jazyků k dispozici na www.ogt.com

Omezení

Tento prostředek je navržen tak, aby detekoval přeskupení s body zlomu v oblasti vymezené červenými a zelenými kopiemi v této sadě sond, což zahrnuje oblasti *IGH* a *MAF*. Body zlomu mimo tuto oblast nebo variantní přeskupení plně obsažená v této oblasti nemusí být tímto prostředkem detekována.

Tento test není určen k použití v rámci samostatné diagnostiky, prenatalního testování, skríníngu populace, testování přímo u pacientů nebo provádění autotestování. Tento produkt je určen pouze k profesionálnímu laboratornímu použití; veškeré výsledky musejí vyhodnotit kvalifikovaní pracovníci se zohledněním dalších relevantních výsledků testů.

Tento produkt nebyl validován pro použití na jiných typech vzorků nebo chorob, než jsou ty, které jsou specifikovány v odstavci předpokládané použití.

Hlášení a interpretace výsledků FISH musejí být v souladu s profesionálními standardy praxe a měly by zohledňovat další klinické a diagnostické informace. Tato sada je koncipována jako doplněk dalších diagnostických laboratorních testů. Terapeutické postupy nesmí být zahajovány pouze na základě výsledků testů FISH.

Nedodržení protokolu může ovlivnit funkci a vést k falešně pozitivním/negativním výsledkům.

Tato sada nebyla validována pro jiné účely než ty, které jsou uvedeny v odstavci předpokládané použití.

Předpokládané použití

Translokační/dvoufúzní sonda CytoCell IGH/MAF je kvalitativní, neautomatizovaný, fluorescenční *in situ* hybridizační test (FISH) používaný k detekci chromozomálních přeskupení mezi oblastí 14q32.3 na chromozomu 14 a oblastí 16q23 na chromozomu 16 v hematologicky získaných buněčných suspenzích fixovaných v Carnoyově roztoku (3:1 metanol/kyselina octová) od pacientů s potvrzeným nebo předpokládaným mnohočetným myelomem (MM).

Indikace

Tento produkt byl vytvořen jako doplněk k dalším klinickým a histopatologickým testům v rámci uznávaných diagnostických postupů a postupů klinické péče v případech, kdy by znalost stavu translokace *IGH-MAF* byla důležitá pro klinickou léčbu.

Principy testu

Fluorescenční *in situ* hybridizace (FISH) je technika umožňující detekovat sekvence DNA na metafázových chromozomech nebo v interfázových jádrech z fixovaných cytogenetických vzorků. Tato technika využívá sondy DNA, které hybridizují na celé chromozomy nebo na jednotlivé jedinečné sekvence, a slouží jako důležitý doplněk cytogenetické analýzy pomocí G-pruhování. Tuto techniku je nyní možno aplikovat jako základní vyšetřovací nástroj při prenatalním a hematologickém vyšetření a při chromozomální analýze solidního tumoru. Po fixování a denaturaci je k dispozici cílová DNA určená k hybridizaci na podobně denaturovanou, fluorescenčně označenou sondu DNA, která má komplementární sekvence. Po hybridizaci se nevázaná a nespecificky vázaná DNA sonda odstraní a DNA se barevně označí pro účely vizualizace. Fluorescenční mikroskopie potom umožňuje vizualizaci hybridizované sondy na cílovém materiálu.

Informace o sondě

Gen *MAF* (transkripční faktor *MAF bZIP*) se nachází na 16q23 a *IGH* (lokus pro těžký řetězec imunoglobulinu) na 14q32.3. Přibližně 50-60 % případů mnohočetných myelomů (MM) je spojeno s translokacemi zahrnujícími *IGH* a jednoho z několika partnerů včetně *CCND1*, *NSD2 (WHSC1)* a *FGFR3*, *CCND3*, *MAF* nebo *MAFB*¹. Translokace t(14;16)(q32.3;q23) je rekurentní a objevuje se u 2 - 10 % případů MM 1

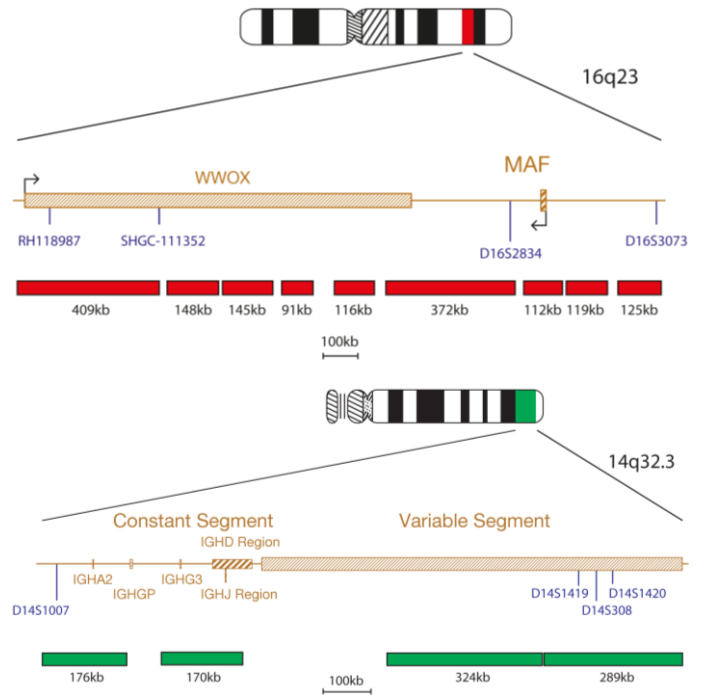
Většina bodů zlomu se objevuje v rámci posledního intronu *WWOX* (*WW* doména obsahující oxidoreduktázu), centromericky k *MAF*. Tyto body zlomu mají dvojitý dopad na umístění enhanceru *IGH* v blízkosti *MAF* a narušení genu *WWOX*². Profilování genové exprese linií myelomových buněk odhalilo, že *MAF* způsobí transaktivaci cyklinu D2 (promotoru progresu buněčného cyklu), čímž zvýší proliferaci myelomových buněk³.

Podle informací z literatury se u pacientů s MM, kteří mají t(14;16), zdá, že mají mnohem agresivnější klinický výsledek^{4,5}

Parametry sondy

MAF, 16q23, červená

IGH, 14q32.3, zelená



Translokační dvoufúzní sonda IGH/MAF v2 se skládá ze směsi sondy *IGH*, označené zeleně, pokrývající konstantní, J, D a variabilní segmenty genu *IGH* a směsi sondy *MAF*, označené červeně, která pokrývá gen *MAF*, boční oblasti a také gen *WWOX*.

Dodaný materiál

Sonda: 50 µl v jedné lahvičce (5 testů) nebo 100 µl v jedné lahvičce (10 testů)
Sondy jsou dodávány předem smíchané v hybridizačním roztoku (formamid; dextran sulfát; solný roztok citrátu sodného (SSC)) a jsou připraveny k použití.

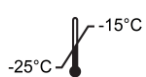
Kontrastní barvivo: 150 µl v jedné lahvičce (15 testů)

Kontrastním barvivem je DAPI antifade (ES: 0,125 µg/ml DAPI (4,6-diamidin-2-fenylinol)).

Varování a bezpečnostní pokyny

1. Pro diagnostické použití *in vitro*. Výhradně k profesionálnímu použití.
2. Při manipulaci s DNA sondami a barvivem DAPI antifade používejte rukavice.
3. Směsi v sondách obsahují formamid, což je teratogen; nevdechujte výpary a zamezte kontaktu s pokožkou. Zacházejte s ním opatrně; noste rukavice a laboratorní plášť.
4. DAPI je potenciální karcinogen. Zacházejte s ním opatrně; noste rukavice a laboratorní plášť.
5. Veškeré nebezpečné materiály likvidujte v souladu se směrnicemi pro likvidaci nebezpečného odpadu vašeho zdravotnického zařízení.
6. Pracovníci musí být schopni rozlišit červenou, modrou a zelenou barvu.
7. Nedodržení předepsaného protokolu a reagentů může ovlivnit funkci a vést k falešně pozitivním/negativním výsledkům.
8. Sonda se nesmí ředit ani míchat s jinými sondami.
9. Není-li během kroku predenaturace v rámci protokolu použito 10 µl sondy, může to ovlivnit funkci a vést k falešně pozitivním/negativním výsledkům.

Uchovávání a manipulace



Sadu je třeba uchovávat v mrazničce při teplotách $-25\text{ }^{\circ}\text{C}$ až $-15\text{ }^{\circ}\text{C}$ až do data expirace uvedeného na štítku sady. Sonda a lahvičky s kontrastními barvivy musí být uloženy v temnu.



Sonda zůstává během cyklů zmrazování a rozmrazování, k nimž dochází při běžném používání, stabilní (jeden cyklus znamená vyjmutí sondy z mrazničky a vrácení do mrazničky) a je fotostabilní až 48 hodin po souvislém vystavení světlu. Je třeba vynaložit veškeré úsilí na omezení expozice světlu a teplotním změnám.

Potřebné vybavení a materiál, které nejsou součástí dodávky

Je nutné používat kalibrovaná zařízení:

1. Varná deska (s pevnou plotnou a přesným ovládním teploty do $80\text{ }^{\circ}\text{C}$)
2. Kalibrované mikropipety s různým objemem a špičkami v rozsahu od $1\text{ }\mu\text{l}$ do $200\text{ }\mu\text{l}$
3. Vodní lázeň s přesným ovládním teploty od $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ do $72\text{ }^{\circ}\text{C}$
4. Mikrocentrifugační zkumavky ($0,5\text{ ml}$)
5. Fluorescenční mikroskop (viz oddíl Doporučený fluorescenční mikroskop)
6. Mikroskop s fázovým kontrastem
7. Čisté plastové, keramické nebo skleněné (z ohnivzdorného skla) lahvičky typu „coplín“
8. Chirurgické kleště
9. Kalibrovaný pH metr (nebo pH indikační proužky schopné měřit pH v rozmezí 6,5–8,0)
10. Vlhčená nádoba
11. Imerzní olej na objektiv fluorescenčního mikroskopu
12. Stolní odstředivka
13. Mikroskopová sklička
14. Krycí sklička $24 \times 24\text{ mm}$
15. Stopky
16. Inkubátor $37\text{ }^{\circ}\text{C}$
17. Lepidlo na bázi kaučukového roztoku
18. Vřivý mixér
19. Odměrné válce
20. Magnetická míchačka
21. Kalibrovaný teploměr

Volitelné vybavení, které není součástí dodávky

1. Cytogenetická sušicí komora

Potřebné reagenty, které nejsou součástí dodávky

1. $20\times$ fyziologický roztok citrátu sodného (SSC)
2. 100% etanol
3. Tween-20
4. 1 M hydroxidu sodného (NaOH)
5. 1 M kyseliny chlorovodíkové (HCl)
6. Demineralizovaná voda

Doporučený fluorescenční mikroskop

Pro optimální vizualizaci použijte 100Wattovou rtuťovou lampu nebo podobnou a apochromatické objektivy 60/63x nebo 100x s imerzním olejem. Fluorofory použité v této sadě sondy budou excitovat a emitovat při následujících vlnových délkách:

Fluorofor	Excitace _{max} [nm]	Emise _{max} [nm]
Zelená	495	521
Červená	596	615

Zajistěte, aby byl mikroskop vybaven příslušnými excitačními a emisními filtry, které pokrývají výše uvedené vlnové délky. Pro optimální simultánní vizualizaci zelených a červených fluoroforů použijte třípásmový DAPI/zelený/červený filtr nebo dvoupásmový zelený/červený filtr.

Před použitím zkontrolujte správnou funkci fluorescenčního mikroskopu. Použijte imerzní olej vhodný pro fluorescenční mikroskopy připravený pro nízkou autofluorescenci. Dbejte na to, aby nedošlo ke smíchání barviva DAPI antifade s imerzním olejem do mikroskopu, protože by tak došlo k zastření signálů. Dodržte doporučení výrobce týkající se životnosti lampy a stáří filtrů.

Příprava vzorků

Sada je určena k použití u hematologicky získaných krevních suspenzí fixovaných v Carnoyově fixačním roztoku (3:1 metanol/kyselina octová), které jsou připraveny v souladu s pokyny laboratoře nebo zdravotnického zařízení. Na mikroskopová sklička naneste vzorky usušené na vzduchu v souladu se standardními cytogenetickými postupy. *Cytogenetics Laboratory Manual* AGT (Příručka pro cytogenetické laboratoře) obsahují doporučení pro odběr, kultivaci a získávání vzorků a pro přípravu sklíček⁷.

Příprava roztoků

Etanolové roztoky

Rozředte 100% etanol demineralizovanou vodou v následujících poměrech a řádně promíchejte:

- 70% etanol - 7 dílů 100% etanolu na 3 díly demineralizované vody
 - 85% etanol - 8,5 dílů 100% etanolu na 1,5 dílu demineralizované vody
- Roztoky skladujte až 6 měsíců při pokojové teplotě ve vzduchotěsné nádobě.

Roztok 2xSSC

Zředte 1 díl roztoku 20xSSC 9 díly demineralizované vody a řádně promíchejte. Zkontrolujte pH a pomocí NaOH nebo HCl podle potřeby upravte na pH 7,0. Roztok skladujte ve vzduchotěsné nádobě při pokojové teplotě po dobu až 4 týdnů.

Roztok 0,4xSSC

Zředte 1 díl roztoku 20xSSC 49 díly demineralizované vody a řádně promíchejte. Zkontrolujte pH a pomocí NaOH nebo HCl podle potřeby upravte na pH 7,0. Roztok skladujte ve vzduchotěsné nádobě při pokojové teplotě po dobu až 4 týdnů.

Roztok 2xSSC, 0,05% roztok Tween-20

Zředte 1 díl roztoku 20xSSC 9 díly demineralizované vody. Na 10 ml přidejte 5 μl roztoku Tween-20 a řádně promíchejte. Zkontrolujte pH a pomocí NaOH nebo HCl podle potřeby upravte na pH 7,0. Roztok skladujte ve vzduchotěsné nádobě při pokojové teplotě po dobu až 4 týdnů.

Protokol FISH

(Poznámka: Dbejte na to, aby byla vždy omezena expozice sondy a kontrastních barviv osvětlení v laboratoři).

Příprava sklíčka

1. Naneste buněčný vzorek na mikroskopové skličko. Nechte ho uschnout. **(Volitelně při použití cytogenetické sušicí komory:** vzorky lze na skličko nanést pomocí cytogenetické sušicí komory. K optimálnímu nanesení buněčných vzorků by měla komora pracovat při teplotě přibližně $25\text{ }^{\circ}\text{C}$ a vlhkosti 50 %. Pokud cytogenetickou sušicí komoru nemáte, použijte jako alternativu digestoř.)
2. Skličko ponořte na 2 minuty do roztoku 2xSSC při pokojové teplotě. Neprotřepávejte.
3. Dehydratujte pomocí etanolové série (70%, 85% a 100%), vždy po dobu 2 minut při pokojové teplotě.
4. Nechte ho uschnout.

Predenaturace

5. Vyjměte sondu z mrazničky a nechte ji zahřát na pokojovou teplotu. Laboratorní lahvičky před použitím krátce odstředte.
6. Dbejte na to, aby byl roztok sondy rovnoměrně promíchán pipetou.
7. Na každý test naberte $10\text{ }\mu\text{l}$ sondy a přeneste ji do mikrocentrifugační zkumavky. Zbytek sondy vraťte rychle do mrazničky.
8. Sondu a skličko se vzorkem umístěte na varnou desku a předehřívajte po dobu 5 minut při teplotě $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ ($\pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$).
9. Kápněte $10\text{ }\mu\text{l}$ směsi sondy na buněčný vzorek a opatrně jej překryjte krycím skličkem. Neprodyšně uzavřete pomocí kaučukového lepidla a nechte lepidlo úplně uschnout.

Denaturace

10. Zahříváním sklička na varné desce po dobu 2 minut při teplotě $75\text{ }^{\circ}\text{C}$ ($\pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$) vzorek a sondu souběžně denaturujte.

Hybridizace

11. Skličko uložte na noc do vlhké neprůsvítné nádoby při teplotě $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ ($\pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$).

Post-hybridizační vymývání

12. Vyjměte DAPI z mrazničky a nechte ho zahřát na pokojovou teplotu.
13. Opatrně sejměte krycí skličko a odstraňte všechny zbytky lepidla.
14. Skličko ponořte na 2 minuty do roztoku 0,4xSSC (pH 7,0) při teplotě $72\text{ }^{\circ}\text{C}$ ($\pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$). Neprotřepávejte.
15. Skličko osušte a na 30 sekund ponořte do roztoku 2xSSC, 0,05% Tween-20 při pokojové teplotě (pH 7,0). Neprotřepávejte.
16. Skličko osušte a na každý vzorek naneste $10\text{ }\mu\text{l}$ DAPI antifade.
17. Přikryte krycím skličkem, odstraňte veškeré bubliny, uložte do temna a po dobu 10 minut nechte vyvíjet barvu.
18. Zkontrolujte pomocí fluorescenčního mikroskopu (viz **Doporučení ohledně fluorescenčního mikroskopu**).

Stabilita připravených sklíček

Pokud jsou hotová sklička uložena v temnu a při pokojové teplotě nebo nižší, lze je analyzovat až po dobu 1 měsíce.

Doporučení pro zpracování

1. Vypalování nebo stárnutí sklíček může redukovat fluorescenční signál.
2. Podmínky hybridizace mohou být nepříznivě ovlivněny použitím reagentů, které nedodává nebo nedoporučuje společnost CytoCELL Ltd.
3. K měření teplot roztoků, vodních lázní a inkubátorů používejte kalibrovaný teploměr, protože tyto teploty jsou velmi důležité k zajištění optimální funkce produktu.
4. Koncentrace promývacího roztoku, pH a teplota jsou důležité, protože nedostatečná důslednost může vést k nespecifickému vázání sondy a přílišná důslednost naopak k nedostatečnému signálu.
5. Neúplná denaturace může vést k nedostatečnému signálu a příliš dlouhá denaturace může rovněž způsobit nespecifické vázání.
6. Nadměrná hybridizace může vést k dodatečným nebo neočekávaným signálům.
7. Uživatelé musejí před použitím testu pro diagnostické účely optimalizovat protokol pro své vlastní vzorky.
8. Neoptimální podmínky mohou vést k nespecifickému vázání, které může být nesprávně interpretováno jako signál sondy.

Interpretace výsledků

Vyhodnocení kvality sklíčka

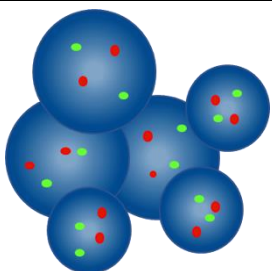
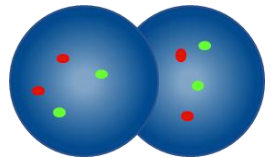
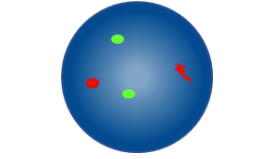
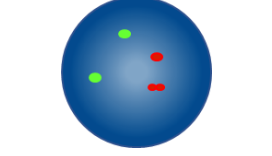
Skličko by se nemělo analyzovat, jestliže:

- jsou signály příliš slabé, a nelze je proto analyzovat jednoduchými filtry – pro pokračování v analýze musejí být signály jasné, výrazné a snadno hodnotitelné;
- analýze brání velký počet shluků buněk nebo překrývajících se buněk;
- nebylo hybridizováno $>50\%$ buněk;

- mezi buňkami se nachází příliš mnoho fluorescenčních částic a/nebo fluorescenčního zákalu, který ruší signály – u optimálních sklíček by mělo být pozadí tmavé nebo černé a čiré;
- není možné rozlišit hranice buněčných jader a hranice nejsou nepoškozené.

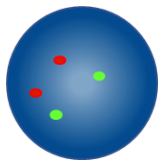
Pokyny pro analýzu

- Každý vzorek musí analyzovat a vyhodnotit dva analytici. Jakékoliv nesrovnalosti se musí vyřešit hodnocením třetího analytika.
- Všichni analytici musí mít odpovídající kvalifikaci v souladu s uznávanými národními standardy.
- Všichni analytici musí provést nezávislé hodnocení 100 jader každého vzorku. První analytik musí začít provádět analýzu z levé strany sklíčka a druhý analytik z pravé strany.
- Každý analytik musí zdokumentovat své výsledky na samostatných listech.
- Analyzujte pouze nepoškozená jádra, nikoli překrývající se nebo nahromaděná jádra ani jádra překrytá cytoplazmatickým odpadem či jádra s vysokým stupněm autofluorescence.
- Vyhněte se místům, kde je příliš mnoho cytoplazmatického odpadu nebo kde se vyskytuje nespecifická hybridizace.
- Intenzita signálu se může lišit, dokonce i v rámci jediného jádra. V takových případech použijte jednoduché filtry a/nebo upravte ohniskovou rovinu.
- Za neoptimálních podmínek se mohou signály jevit jako rozptýlené. Jestliže se dva signály stejné barvy vzájemně dotýkají, nebo je mezi nimi vzdálenost menší než dvě šířky signálu, nebo pokud dva signály spojuje slabý pruh, počítejte je jako jeden signál.
- Pokud si nejste jisti, zda lze buňku analyzovat či nikoli, analýzu neprovádějte.

Pokyny pro analýzu	
	Nepočítejte – jádra jsou příliš těsně u sebe, takže není možno určit hranice
	Nepočítejte překrývající se jádra – všechny oblasti obou jader nejsou viditelné
	Počítejte jako dva červené signály a dva zelené signály – jeden ze dvou červených signálů je difúzní
	Počítejte jako dva červené signály a dva zelené signály – mezera v jednom červeném signálu je menší než dvě šířky sondy

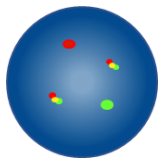
Předpokládané výsledky

Předpokládaný vzor normálního signálu



U normální buňky se předpokládají dva červené a dva zelené signály (2R, 2G).

Předpokládaný vzorec abnormálního signálu



V buňce s translokací t(14;16)(q32.3;q23) bude mít předpokládaný vzorec signálu jeden červený, jeden zelený a dva fúzní signály (1R, 1G, 2F).

U aneuploidních/nevyvážených vzorků jsou možné další vzorce signálu. Vezměte prosím na vědomí, že za přítomnosti dalších přeskupení IGH kromě translokace IGH/MAF se může zelený signál IGH jevit jako rozštěpený.

Známa zkřížená reaktivita

Zelená sonda IGH může vykazovat zkříženou hybridizaci na 15q11.2 a 16p11.2.

Hlášení nežádoucích účinků

Pokud se domníváte, že přípravek selhal nebo došlo ke zhoršení jeho funkčních charakteristik, což mohlo přispět ke vzniku nežádoucí události (např. zpožděná nebo chybná diagnóza, zpožděná a nevhodná léčba), je nutné tuto skutečnost neprodleně oznámit výrobci (e-mail: vigilance@ogt.com).

V odpovídajících případech je rovněž nutné událost oznámit příslušnému národnímu orgánu. Seznam kontaktních míst pro vigilanci naleznete na adrese: <http://ec.europa.eu/growth/sectors/medical-devices/contacts/>.

Specifické výkonnostní charakteristiky

Analytická specifita

Analytická specifita je definována jako procento signálů, které hybridizují do správného lokusu a na žádné jiné místo. Byly analyzovány čtyři chromozomální lokusy v každé z dvaceti metafázových buněk z pěti vzorků, což znamená celkem 400 datových bodů. Bylo zmapováno umístění všech hybridizovaných sond a byl zaznamenán počet FISH signálů metafázových chromozomů hybridizovaných na správný lokus.

Analytická specifita jednotlivých sond v sadě byla vypočtena jako počet signálů FISH metafázového chromozomu hybridizovaných na správný lokus vydělený celkovým počtem hybridizovaných FISH signálů metafázového chromozomu, tento výsledek byl vynásoben číslem 100 a vyjádřen jako procento s intervalem spolehlivosti 95 %.

Tabulka 1. Analytická specifita translokační, dvoufúzní sondy IGH/MAF v2

Cíl	Počet hybridizovaných metafázových chromozomů	Počet správně hybridizovaných lokusů	Analytická specifita	Interval spolehlivosti 95 %
14q32.3	200	200	100 %	98,12 % - 100 %
16q23	200	200	100 %	98,12 % - 100 %

Analytická citlivost

Analytická citlivost je procento započítatelných interfázových buněk s předpokládaným normálním signálovým vzorem. Bylo analyzováno minimálně 200 interfázových buněk pro každý z 25 karyotypicky normálních fixovaných vzorků kostní dřeně nebo vzorků kostní dřeně negativních na přeskupení IGH a buněčné vzorky CD138+ negativní na 25 IGH; výsledkem bylo minimálně 5 000 jader, která byla pro jednotlivé typy vzorku získána. Byly analyzovány údaje o citlivosti na základě procenta buněk vykazujících normální předpokládaný signální vzorec a byly vyjádřeny jako procento s 95% intervalem spolehlivosti.

Tabulka 2. Analytická citlivost translokační, dvoufúzní sondy IGH/MAF v2

Typ vzorku	Kritéria citlivosti	Výsledek citlivosti
Kostní dřeň	>95 %	97,8 % ± 0,67 %
CD138+	>95 %	96,64 % ± 0,78 %

Charakteristika normálních mezních hodnot

Normální mezní data jsou definována jako procento buněk vykazujících falešně pozitivní signální vzorec, při němž by hodnota u pacienta byla považována za normální a neodpovídala klinické diagnóze. Bylo analyzováno minimálně 200 interfázových buněk pro každý z 25 karyotypicky normálních fixovaných vzorků kostní dřeně nebo vzorků kostní dřeně negativních na přeskupení IGH a buněčné vzorky CD138+ negativní na 25 IGH; výsledkem bylo minimálně 5 000 jader, která byla pro jednotlivé typy vzorku získána.

Mezní hodnota byla určena pomocí funkce β -inverse (BETAINV) v MS Excel. Byla vypočtena jako procento interfázových buněk vykazujících falešně pozitivní signální vzorec pomocí horní hranice jednostranného 95% intervalu spolehlivosti binomického rozdělení u vzorku normálního pacienta.

Tabulka 3. Charakteristika normálních mezních hodnot translokační, dvoufúzní sondy IGH/MAF v2

Typ vzorku	Mezní výsledky
Kostní dřeň	1,5 %
CD138+	1,5 %

Laboratoře si musí ověřit mezní hodnoty pomocí vlastních dat^{7B}.

Přesnost

Byla měřena přesnost tohoto produktu, pokud jde o přesnost v rámci jednoho dne (mezi vzorky), přesnost v různých dnech (mezi dny) a přesnost v rámci různých šarží na jednom pracovišti (mezi šaržemi).

K hodnocení přesnosti produktu byly použity tři vzorky: jeden vytvořený vzorek normální kostní dřeně (vytvořený z 25 jednotlivých vzorků), jeden vytvořený vzorek s normálním CD138+ (vytvořený z 28 jednotlivých vzorků) a jeden vzorek s nízkou pozitivitou CD138+ (2-4x mezní hodnoty produktu, vytvořené propichnutím

normálního vzorku CD138+ vzorkem se známou pozitivitou), který byl použit, aby byl produkt zpochybněn v oblasti stanovených mezních hodnot.

Pro stanovení přesnosti v rámci různých dnů / v rámci jednoho dne byly vzorky hodnoceny v rozmezí pěti dnů, které nenásledovaly po sobě; pro stanovení přesnosti mezi šaržemi byly hodnoceny tři šarže produktu v rámci čtyř opakování stejných vzorků. Výsledky byly prezentovány jako všeobecná shoda s předpovídanou negativní klasifikací (u negativních vzorků).

Tabulka 4. Reprodukovatelnost a přesnost translokační, dvoufúzní sondy IGH/MAF v2

Variabilní	Typ vzorku	Shoda
Přesnost v rámci jednoho dne / v různých dnech	Normální kostní dřeň (negativní)	100 %
	Normální CD138+ (negativní)	100 %
	Nízká pozitivita CD138+	100 %
Reprodukovatelnost mezi šaržemi	Normální kostní dřeň (negativní)	100 %
	Normální CD138+ (negativní)	100 %
	Nízká pozitivita CD138+	100 %

Klinická funkce

Aby bylo zajištěno, že produkt odhalí záměrná přeskupení, byl pro tento produkt stanoven pomocí dvou studií klinický výkon na reprezentativních vzorcích určené populace: jedna využívá vzorky CD138+ a druhá využívá vzorky kostní dřeně. Všechny studie měly 20 vzorků, s cílovou populací pěti fúzně pozitivních IGH-MAF vzorků a patnácti fúzně negativních IGH-MAF vzorků. Všechny vzorky byly anonymizovány a randomizovány, aby nedošlo ke zkreslení analýzy. Výsledky byly porovnány se známým stavem vzorku. Sonda správně určila stav vzorků ve všech případech.

Výsledky těchto testů byly analyzovány, aby poskytly hodnoty klinické citlivosti, klinické specifity a míru falešné positivity (FPR) pozitivních signálů pomocí jednodimenzního přístupu.

Tabulka 5. Klinický výkon translokační, dvoufúzní sondy IGH/MAF v2

Variabilní	Výsledek
Klinická senzitivita (míra skutečné positivity, TPR)	97,3 %
Klinická specifita (míra skutečné negativity, TNR)	99,8 %
Míra falešné positivity (FPR) = 1 – specifita	0,2 %

Další informace

Další informace o produktu vám sdělí oddělení technické podpory společnosti CytoCell.

Tel.: +44 (0)1223 294048

E-mail: techsupport@cytoCELL.com

Web: www.ogt.com

Reference

- Fonseca *et al.*, Cancer Res 2004;64:1546-1558
- Walker *et al.*, Blood 2013;121(17):3413-3419
- Chang H *et al.*, Leukemia 2007;21:1572-1574
- Fonseca *et al.*, Leukemia 2009;23(12):2210-2221
- Sawyer, Cancer Genetics 2011;204(1):3-12
- Arsham, MS., Barch, M.J. 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.

REF	cz: Katalogové číslo
IVD	cz: Zdravotnický diagnostický prostředek <i>in vitro</i>
LOT	cz: Kód šarže
	cz: Viz návod k použití
	cz: Výrobce
	cz: Datum spotřeby
	cz: Omezení teploty
	cz: Chraňte před slunečním světlem
	cz: Množství dostačuje k provedení <n> testů
CONT	cz: Obsah

Patenty a ochranné známky

CytoCell je registrovaná ochranná známka společnosti CytoCell Ltd.

CytoCell Ltd.

Oxford Gene Technology,
418 Cambridge Science Park,
Milton Road,
Cambridge, CB4 0PZ, Spojené království
Tel.: +44(0)1223 294048
Fax: +44(0)1223 294986
E: probes@cytoCELL.com
W: www.ogt.com

