



A Sysmex Group Company



Kasutusjuhend

REF: LPH 068-S / LPH 068

Sond D13S319 Plus Deletion Probe



AINULT ERIALASEKS KASUTAMISEKS



www.cytocell.com

Lisateave ja muud keeled on saadaval aadressil www.ogt.com

Piirangud

Seade on loodud tuvastama genoomilisi kadusid, mis on suuremad kui sondikomplekti punase kloori kaetud piirkond, mis sisaldab piirkonda D13S319. 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 iseendal 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 kliinilist ja diagnostilist teavet. See komplekt on ette nähtud muude laboratoorse analüüside täiendamiseks ja ravi ei tohiks alustada, põhinedes vaid FISH-i tulemustel.

Protokoll 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 D13S319 Plus Deletion Probe on kvalitatiivne, mitteautomaatne, fluorestsents *in situ* hübriidatsiooni (FISH) uuring, mida kasutatakse 13. kromosoomi 13q14.2–q14.3 piirkonna kromosomaalsete deletsioonide tuvastamiseks Carnoy lahuses (3:1 metanool/atseethape) fikseeritud hematoloogiliselt tuletatud rakususpensioonides, mis pärinevad kinnitatud või kahtlustatud kroonilise lümfotsütaarse leukeemia (CLL) või hulgemüeloomiga (MM) patsientidelt.

Näidustused

See toode on loodud täiendusena teistele kliinilistele ja histopatoloogilistele uuringutele tunnustatud diagnostilistes ja kliinilistes raviteedes, kus teadmised D13S319 deletsiooni oleku kohta on kliinilise ravi seisukohalt olulised.

Analüüsi põhimõte

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

Sondi teave

13. kromosoomi pika öla täielikku või osalist kadu põhjustavad ümberkorraldused esinevad sageli paljude hematoloogiliste häirete puhul.

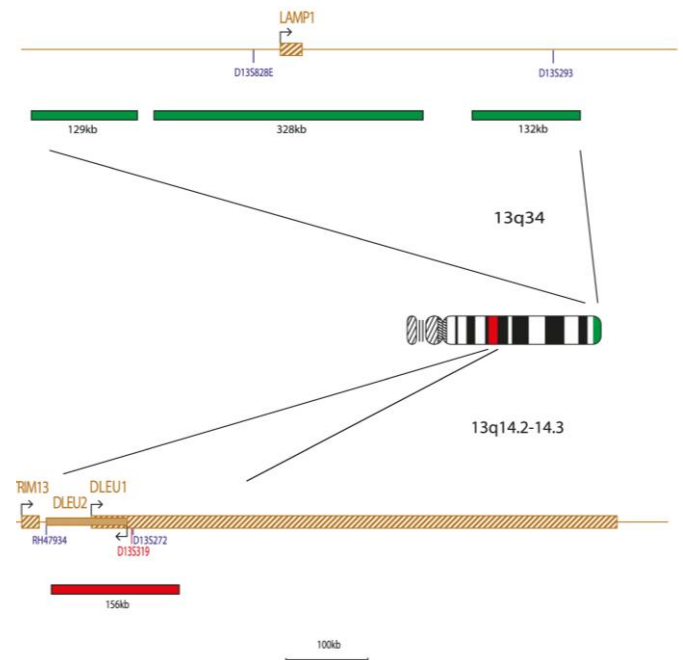
Kromosoomi 13q aberratsioonid leidub 16–40% hulgemüeloomi (MM) juhtudest, millest enamik on täielikud 13. monosoomiad (85%) ja ülejäänud 15% on 13q deletsioonid^{1, 2, 3}. Hulgemüeloomiga patsientide juhtumianalüüs kitsendas kriitilise kustutatud piirkonna 13q14-ni⁴. Ajalooliselt seostatakse 13q deletsiooni MM-i halva prognoosiga, kuid käesolevalt arvatakse, et selle prognostiline tähtsus võib olla seotud teiste samal ajal esinevate geneetiliste kahjustustega^{3, 5}.

13q14 mõjutavad deletsioonid on samuti kõige sagedasemad kroonilise lümfotsütaarse leukeemia (CLL) strukturealsed geneetilised aberratsioonid^{6, 7, 8}. On leitud, et piirkonnas on heterosügootne deletsioon 30–60% ja homosügootne deletsiooni 10–20% KLL-ga patsientidest⁹. Elulemus on mõlemas rühmas sarnane¹⁰. 13q14 deletsioonidega patsiendid on klassifikatsiooni järgi väga madal riskiga ilma muude geneetiliste kahjustuteta¹¹.

Patogeenne kriitiline 13q14 piirkond hõlmab kahte mittekodeerivat RNA-geeni DLEU1 (*deleted in lymphocytic leukemia 1*) ja DLEU2 (*deleted in lymphocytic leukemia 2*) pluss geneetilist markerit D13S319¹². DLEU1 peetakse kõige tõenäolisemaks CLL-ga seotud kandidaat-tuumorsuppressioonis 13q14 piirkonnas¹³. Seejärel leiti, et 44% juhtudest esineb deletsioon lookuses D13S319, mis asub RB1 geeni ja D13S25 vahel DLEU1 lookuses¹⁴. Samuti oletatakse, et D13S319 piirkonna suhtes telomeerne geen, mis sisaldab lookust D13S25, võib olla oluline hemisügootsete deletsioonidega juhtudel ja et see on oletatav tuumorsuppressioon¹⁵.

Sondi spetsifikatsioon

D13S319, 13q14.2–14.3, punane
13qter, 13q34, roheline



Punasega märgistatud D13S319 sond hõlmab 156 kb piirkonda, mis sisaldab kogu DLEU1 geeni ja suuremat osa DLEU2 geenist ja markereid D13S319, D13S272 ja RH47934. Rohelisega märgistatud 13qter subtelomeeri spetsiifiline sond võimaldab tuvastada 13. kromosoomi ja toimib kontrollsondirina.

Tarnitavad materjalid

Sond 50 µl viali kohta (5 analüüsi) või 100 µl viali kohta (10 analüüsi)
Sondid tarnitakse hübriidiseerimislahusega eelsegatuna (formamid; dekstraansulfaat; naatriumtsitraadi soolalahus (saline-sodium citrate, SSC)) ja on valmis kasutamiseks.

Vastandvärv

150 µl viali 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 sonde ja DAPI vastandvärv käsitlemisel kandke kindaid.
3. Sondi segud sisaldavad formamiidi, mis on teratogeenne; ärge hingake sisse auru ning vältige kontakti nahaga. Käsitsege ettevaatlikult; kasutage kindaid ja laborikittit.
4. DAPI on potentsiaalne kartsinogeen. Käsitsege ettevaatlikult; kasutage kindaid ja laborikittit.
5. Vabanege kõigist ohtlikest jäätmest oma asutuse ohtlike jäätmekäitluse eeskirjade kohaselt.
6. Kasutajad peavad olema suutelised eristama punast, sinist ja rohelist värv.
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 10 µl kasutamata jätmise protokoll denatureerimise etapis võib mõjutada analüüsi toimivust ja põhjustada valepositiivseid/valenegatiivseid tulemusi.

Säilitamine ja käsitsemine



Komplekti tuleks säilitada külmutatuna temperatuurivahemikus $-25\text{...}-15\text{ }^{\circ}\text{C}$ kuni kehtivusaja lõpuni, mis on esitatud toote etiketil. Sondi ja vastandvärvi viaale tuleb säilitada pimedas.



Sond säilitab stabiilsuse normaalse kasutamise ajal esinevate sulatamise ja külmutamise tsüklite 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 $80\text{ }^{\circ}\text{C}$)
2. Kalibreeritud erineva mahuga mikropipetid ja otsikud vahemikus 1–200 µl
3. Vesivann, täpse temperatuuriregulaatoriga $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ ja $72\text{ }^{\circ}\text{C}$ 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 aluskliaasid
14. 24x24 mm kattekliaasid
15. Taimer
16. $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ inkubaator
17. Kattekliaasi 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 vesinikkloriid (HCl)
6. Destilleeritud vesi

Fluorestsentsmikroskoobi soovitused

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

Fluorofoor	Eksitatsioon _{max} [nm]	Emissioon _{max} [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 samaaegselt 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 hematoloogilisel tuletatud rakususpensioonidega, mis on fikseeritud Carnoy lahuses (3:1 metanool/atseetahape) ja ette valmistatud vastavalt labori või asutuse eeskirjadele. Valmistage ette õhu käes kuivatatud mikroskoobi aluskliaasid vastavalt tsütogeneetika standardprotseduuridele. AGT *Tsütogeneetika laborijuhend* sisaldab soovitusi proovi kogumise, kultuuri istutamise, kogumise ja slaidi tegemise kohta¹⁶.

Lahuse ettevalmistamine

Etanooli lahused

Lahjendage 100%-line 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 lahuse

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 lahuse

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 lahuse

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 aluskliaasile. Laske kuivada. (**Valikuline, kui kasutatakse tsütogeneetilist kuivatuskambrit:** slaidid tuleks valmistada tsütogeneetilist kuivatuskambrit kasutades. Optimaalseks slaidi valmistamiseks tuleks kambrit kasutada temperatuuril ligikaudu $25\text{ }^{\circ}\text{C}$ 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 soojeneda toatemperatuurile. Tsentrifugeerige katsuteid lühidalt enne kasutamist.
6. Veenduge, et sondi lahuse on ühtlaselt segunenud, kasutades pipetti.
7. Eemaldage 10 µl sondi analüüsi kohta ja viige see mikrotsentrifuug katsutisse üle. Tagastage ülejäänud sond kiiresti külmikusse.
8. Asetage sond ja proovislaid 5 minutiks kuumutusplaadile eelsoojenema temperatuuril $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ ($\pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$).
9. Tilgutage 10 µl sondisegu rakuproovile ja asetage ettevaatlikult kattekliaas. Lisage kattekliaasi liim ja laske liimil täielikult kuivada.

Denaturatsioon

10. Denatureerige proov ja sond üheaegselt, kuumutades slaidi kuumutusplaadil temperatuuril $75\text{ }^{\circ}\text{C}$ ($\pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$) 2 minutit.

Hübriidatsioon

11. Asetage slaid niiskesse valguskindlasse kambris temperatuurile $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ ($\pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$), laske seista üleöö.

Hübriidatsioonijärgsed pesud

12. Eemaldage DAPI külmikust ja laske soojeneda toatemperatuurile.
13. Eemaldage ettevaatlikult kattekliaasid ja kõik liimijäljed.
14. Kastke slaidid 2 minutiks ilma segamata 0,4-kordsesse SSC lahusesse (pH 7,0) temperatuuril $72\text{ }^{\circ}\text{C}$ ($\pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$).
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 kattekliaasiga, eemaldage mullid ja laske värvil pimedas kujuneda 10 minutit.
18. Vaadake fluorestsentsmikroskoobiga (vt **Fluorestsentsmikroskoobi soovitused**).

Valmis slaidide stabiilsus

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

Protseduuri soovitused

1. Slaidide keetmine või aegumine võib fluorestsentssignaali nõrgendada.
2. Cytozell Ltd poolt toodetud või soovitatud reaktiivide asemel muude reaktiivide kasutamine võib ebasoodsalt mõjutada hübriidiseerimistingimusi
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 hübriidiseerimine võib põhjustada täiendavaid või ootamatuid signaale
7. Kasutajad peaksid enne analüüsi kasutamist diagnostilisel eesmärgil protokoll oma proovidega optimeerima
8. Suboptimaalsed tingimused võivad põhjustada ebaspetsiifilist seondumist, mida võidakse ekslikult sondi signaalina tõlgendada

Tulemuste tõlgendamine

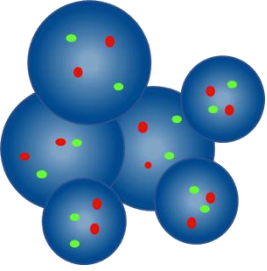
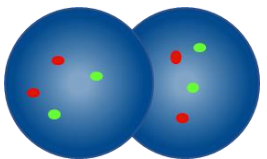
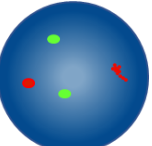
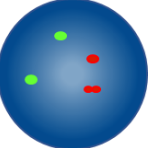
Slaidi kvaliteedi hindamine

Slaidi ei tohiks analüüsida, kui

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

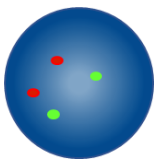
Analüüsi eeskirjad

- 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 paremat küljelt.
- Iga analüütik peaks oma tulemused üles märkima eraldi andmekandjale.
- Analüüsige vaid terviklikke tuumi, mitte kattuvaid või kokkukleepunud või tsütoplasma jääkidega kaetud ega autofluoreseerivaid tuumi.
- Vältige alasid, kus esineb liigseid tsütoplasma jääke või ebaspetsiifilist hübriidiseerimist.
- 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 analüüsimiseks 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 signalist on difuusne
	Lugeda kahe punase signaalina ja kahe rohelise signaalina, kui ühe punase signaali tühimik on kahest signaalipikkusest väiksem

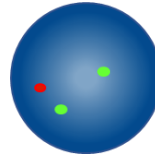
Eeldatavad tulemused

Eeldatav normaalne signaalimuster

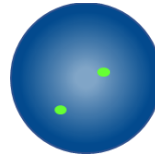


Normaalse raku eeldatav tulemus on kaks punast ja kaks rohelist signaali (2P, 2R).

Eeldatavad ebanormaalsed signaalimustrid



D13S319 lookuse hemisügootse deletsiooniga raku on eeldatav signaalimuster üks punane ja kaks rohelist signaali (1P, 2R).



Homosügootse deletsiooniga raku on eeldatav signaalimuster puuduv punane ja kaks rohelist signaali (0P, 2R).

Aneuploidsete/tasakaalustamata proovides võivad esineda teised signaalimustrid

Teadaolev ristreaktiivsus

Teadaolev ristreaktiivsus puudub.

Kõrvale nähtudest teatamine

Kui usute, et see toode ei toimi või selle toimivus on halvenenud ning selle toimel võis esineda kõrvale näht (nt hilinenud või vale diagnoos, hilinenud või ebasobiv ravi), tuleb sellest tootjat kohe teavitada (email: 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 hübriidiseeritud signaalide protsent. Analüütiline spetsiifilisus saavutati kokku 200 sihtmärk-lockuse analüüsimisel. Analüütiline spetsiifilisus arvatati, jagades õige lookusega hübriidiseeritud FISH-i signaalide arvu kogu hübriidiseeritud FISH-i signaali arvuga.

Tabel 1. Sond D13S319 Plus Deletion Probe analüütiline spetsiifilisus

Sond	Sihtmärklookus	Õige lookusega hübriidiseeritud signaalide arv	Hübriidiseeritud signaalide koguarv	Spetsiifilisus (%)
D13S319 punane	13q14.2	200	200	100
13qter roheline	13qter, 13q34	200	200	100

Analüütiline tundlikkus

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

Tabel 2. Sond D13S319 Plus Deletion Probe analüütiline tundlikkus

Eeldatava signaalimustriga rakkude arv	Hinnatava signaaliga rakkude arv	Tundlikkus (%)	95% usaldusvahemik
463	500	92,6	0,7

Normaalse väljaarvamise piirväärtuste kirjeldus

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

Normaalne väljaarvamise piirväärtus saavutati, kasutades normaalsete ja positiivsete patsientide proove. Iga proovi kohta salvestati 100 raku signaalimustrid. Arvatati Youdeni koefitsient, et leida läviväärtus, mille korral Tundlikkus + Spetsiifilisus-1 on maksimaalne.

Tabel 3. Sond D13S319 Plus Deletion Probe normaalse väljaarvamise piirväärtuste kirjeldus

Ebanormaalse signaalimuster	Youdeni koefitsient	Normaalne väljaarvamise piir (%)
1P, 2R või 0P, 2R	0,99	7

Laborid peavad oma andmete põhjal väljaarvamise piiri kinnitama^{17, 18}.

Täpsus ja reprodutseeritavus

Täpsus on analüüsi loomulik varieeruvus korduvalt, samades tingimustes läbiviimisel. Seda hinnati, analüüsides sama partiumbriga sondi kordusanalüüsi samal proovil, samades tingimustes, samal päeval.

Reprodutseeritavus on analüüsi varieeruvus ja see saavutatakse, hinnates varieeruvust proov-prooviga, päev-päevaga ja partii-partiiga. Päev-päevaga reprodutseeritavust hinnati sama proovi analüüsimisel kolmel erineval päeval. Partii-partiiga reprodutseeritavust hinnati ühe proovi ühe sondi kolme erineva partiiga analüüsimisel samal päeval. Proov-prooviga reprodutseeritavust hinnati proovi kolme replikaadianalüüsimisel samal päeval. Iga proovi kohta salvestati 100 interfaasi raku signaalimuster ja arutati eeldatava signaalimustriga rakkude protsent.

Reprodutseeritavus ja täpsus arutati replikaatide vahelise standardhälbera (SH) iga muutuja kohta ning üldise keskmise SH suhtarvuna.

Tabel 4. Sondi D13S319 *Plus Deletion Probe* reprodutseeritavus ja täpsus

Muutuja	Standardhälve (SH)
Täpsus	0,77
Proov-prooviga	0,89
Päev-päevaga	2,27
Partii-partiiga	2,07
Hälve	2,01

Kliiniline toimivus

Kliiniline toimivus saavutati toote sihtgrupi esindusproovil. Iga proovi kohta salvestati ≥ 100 interfaasi raku signaalimustrid. Normaalne/ebanormaalne hinnang anti, võrreldes teatud ebanormaalse signaalimustriga rakkude protsenti normaalse väljaarvamise piirväärtusega. Siis võreldi tulemusi proovi teadaoleva olekuga.

Kliiniliste andmete tulemused analüüsiti selleks, et saavutada tundlikkus, spetsiifilisus ja väljaarvamise piirväärtused ühemõõtelise meetodiga.

Tabel 5. Sondi D13S319 *Plus Deletion Probe* kliiniline toimivus

Muutuja	Tulemus
Kliiniline tundlikkus (tõeselt positiivsete määr) (true positive rate, TPR)	99,7%
Kliiniline spetsiifilisus (tõeselt negatiivsete määr) (true negative rate, TNR)	100%
Valepositiivsete määr (false positive rate, FPR) = 1 – spetsiifilisus	0%

Lisateave

Lisateavet saate kontakteerudes ettevõtte CytoCell tehnilise toe osakonnaga.

Tel: +44 (0)1223 294048



E-mail: techsupport@cytoCell.com

W: www.ogt.com

Viited

- Bullrich F *et al.*, *Cancer Res* 2001;61:6640-8
- Zojer *et al.*, *Blood* 2000;95(6):1925-1930
- Sawyer, *Cancer Genetics* 2011;204:3-12
- Shaughnessy J *et al.*, *Blood* 2000;96:1505-11
- Fonseca *et al.*, *Leukemia* 2009;23:2210-2221
- Juliusson G *et al.*, *N Eng J Med* 1990;323:720-4
- Puiggros *et al.*, *Biomed Res Int* 2014;1-13
- Kasar *et al.*, *Nature Communications* 2015;6:1-12
- Hammarsund M *et al.*, *FEBS Letters* 2004;556:75-80
- Van Dyke DL *et al.*, *Br J Haematology* 2009;148:544-50
- Rossi *et al.*, *Blood* 2013;121(8):1403-1412
- Liu Y *et al.*, *Oncogene* 1997;15:2463-73
- Wolf S *et al.*, *Hum Mol Genet* 2001;10:1275-85
- Liu Y *et al.*, *Blood* 1995;86:1911-5
- Bullrich F *et al.*, *Blood* 1996;88(8):3109-15
- Arsham, MS., Barch, M.J. and Lawce H.J. (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

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