



A Sysmex Group Company



Lietošanas instrukcija

REF: LPH 041-S/LPH 041

Zonde IGH/cMYC (MYC) Translocation, Dual Fusion Probe



TIKAI PROFESIONĀLAM LIETOJUMAM



www.cytozell.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 zāļie kloni šajā zonu komplektā, kurā ietilpst MYC un IGH 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, prenatālai testēšanai, konkrētu populāciju skrīningam, testēšanai ārpus laboratorijas un paštestēšanai. Šis produkts ir paredzēts tikai profesionālai lietošanai laboratorijās; visu rezultātu interpretēšana jāveic atbilstoši kvalificētiem darbiniekiem, nemot vērā citu attiecināmo testu rezultātu.

Šis produkts nav apstiprināts lietošanai tādu tipu paraugiem vai slimībām, kas nav norādīti informācijā par paredzēto lietojumu.

Zinošās par luminiscētās *in situ* hibridizācijas rezultātiem un to interpretēšanai ir jāveic atbilstoši profesionālajiem prakses standartiem un ir jāņem vērā cita kliniskā un diagnostikas informācija. Šis komplekts ir paredzēts kā citu diagnostisko laboratorijas testu palīgķīdzeklis, un lēmumus par terapiju nedrīkst pieņemt, vadoties tikai pēc luminiscētās *in situ* hibridizācijas rezultātiem.

Neievērojot attiecīgo protokolu, var tikt ieteikmēta 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/cMYC (MYC) Translocation, Dual Fusion Probe ir kvalitatīvs, neautomatizēts luminiscētās *in situ* hibridizācijas (fluorescence *in situ* hybridisation — FISH) tests, kas paredzēts hromosomālo pārkārtojumu noteikšanai starp 8. hromosomas reģionu 8q24.21 un 14. hromosomas reģionu 14q32.3 Karnuā ūķidumā (3:1 metanolš/etiķskābe) fiksētās hematoloģiski iegūtās šūnu suspensijās no pacientiem, kuriem ir konstatēta B šūnu limfoproliferatīvā slimība vai pastāv aizdomas par tās esamību.

Indikācijas

Šis produkts ir paredzēts kā citu klinisko un histopatoloģisko testu papildinājums atzītās diagnostikas un kliniskās aprūpes metodēs, kad informācija par IGH-MYC translokācijas statusu ir svarīga kliniskajai pārvaldībai.

Testa principi

Luminiscētā *in situ* hibridizācija (Fluorescence *in situ* hybridisation — FISH) ir metode, kas lauj noteikt DNS sekvences metafāžu hromosomās vai interfāzes kodolos fiksētām citoģenētiskiem paraugiem. Šajā metodē tiek izmantotas DNS zondes, kas hibridizējas ar veselām hromosomām vai atsevišķām unikālām sekvenčēm un kalpo kā efektīvs G joslu citoģenētiskās analīzes palīgķīdzeklis. Šo metodi tagad var lietot kā būtisku izmeklēšanas instrumentu prenatālajā, hematoloģiskajā un solīdu audzēju hromosomālajā analīzē. Mērķa DNS pēc fiksācijas un denaturēšanas ir pieejama hibridizācijai ar līdzīgi denaturētu, luminiscējoši markētu DNS zondi, kuri ir papildu sekvences. Pēc hibridizācijas nesaistītā un nespecifiski saistītā DNA zonde tiek aizvēpta un DNS tiek kontrastēta vizualizācijai. Pēc tam, izmantojot luminiscences mikroskopiju, hibridizēto zondi var vizualizēt mērķa materiālā.

Informācija par zondi

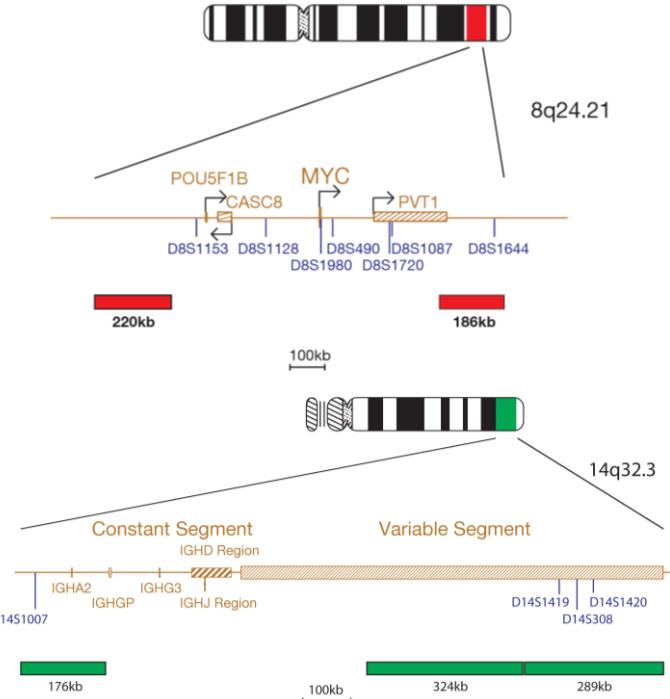
Jānorāda, ka t(8;14)(q24;q32) translokācija, kurā iesaistīts IGH (*imūnglobulīna smagās kēdes lokusa*) gēns, kas atrodas 14q32.33, un MYC (*MYC protoonkogēns, bHLH transkripcijas faktors*) onkogēns, kas atrodas 8q24, ir atzīta anomālitāte ar tendenci atkārtoties, kas parasti konstatējama pacientiem ar jaundabīgiem B šūnu jaunveidojumiem.

IGH-MYC pārkārtojumi ir konstatēti līdz pat 85% diagnosticētas Bērķita limfomas gadījumu¹. Tie ir konstatējami arī difūzās lielo B šūnu limfomas (diffuse large B-cell lymphoma — DLBCL)², multiplās mielomas un plazmobilastisko limfomu^{3,4} gadījumos.

IGH-MYC pārkārtojumā translokācijas pārtraukumpunkti 14. hromosomā ir kļasterēti šaurā reģionā 5' no imūnglobulīna smagās kēdes lokusa introna pastiprinātāja, savukārt 8. hromosomā pārtraukumpunkti var rasties vairāk nekā 340kb virs MYC, bez centra preferences⁵. Translokācijas rezultātā MYC nonāk IGH pastiprinātāja tiesā tuvumā un tiek izraisīta MYC augšupregulācija. Transkripcijas faktora pāreksprezija stimulē gēnu amplifikāciju, izraisot nekontrolētu šūnu proliferāciju⁶.

Zondes specifitācija

cMYC, 8q24.21, sarkanā
IGH, 14q32.33, zaļa



IGH/cMYC produktā ietilpst zondes, markētas zaļā krāsā, kas nosedz IGH gēna konstanto un variablu reģionu, kā arī cMYC zondes, kas markētas sarkanā krāsā. cMYC zonu maisījumā ietilpst 220kb zonde, kas novietota centromēriski attiecībā pret cMYC (MYC) gēnu, un otra zonde, kas nosedz 186kb reģionu telomēriski attiecībā pret cMYC gēnu, ieterot D8S1644 markēri.

Nodrošinātie materiāli

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

Zondes tiek nodrošinātas iepriekš sajauktā veidā hibridizācijas šķidumā (formamīds; dekstrāna sulfāts; citrāta fizioloģiskais šķidums (saline-sodium citrate — SSC)) un ir gatavas lietošanai.

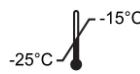
Kontrasta krāsviela:

Kontrasta krāsvielai DAPI luminiscences uzturēšanas šķidums (ES: 0,125 µg/ml DAPI (4,6-diamidino-2-fenilindols)).

Brīdinājumi un piesardzības pasākumi

1. Paredzēts lietošanai *in vitro* diagnostikā. Tikai profesionālai lietošanai.
2. Apejoties ar DNS zondēm un DAPI kontrasta krāsvielu, Valkājet cīmus.
3. Zondes maisījumos ietilpst formamīds, kas ir teratogēns, tādēļ nedrīkst pieļaut to izgarojumu leelpošanu un nonākšanu saskarē ar ādu. Rīkojieties ar to piesardzīgi; Valkājet cīmus un laboratorijas virsvalku.
4. DAPI ir potenciāli kancerogēna viela. Rīkojieties ar to piesardzīgi; Valkājet cīmus un laboratorijas virsvalku.
5. Atbrīvojieties no visām bīstamajām vielām atbilstoši jūsu iestādē spēkā esošajām vadlīnijām attiecībā uz bīstamu atkritumu utilizāciju.
6. Operatoriem jāspēj atšķirt sarkanu, zilo un zaļo krāsu.
7. Neievērojot norādīto protokolu un norādījumus par reaģentiem, var tikt ieteikmēta veikspēja un iegūti kļūdaini pozitīvi vai kļūdaini negatīvi rezultāti.
8. Zondi nedrīkst atšķaidīt vai veidot maisījumus ar citām zondēm.
9. Ja protokola priekšdenaturēšanas fāzēs laikā netiek izmantoti 10 µl zondes, var tikt ieteikmēta veikspēja un iegūti kļūdaini pozitīvi vai kļūdaini negatīvi rezultāti.

Uzglabāšana un apiešanās



Komplekts ir jāglabā saldētavā, temperatūras diapazonā no -25 °C līdz +15 °C, līdz pat derīguma termiņa beigu datumam, kas norādīts uz komplekta marķējuma. Zondes un kontrasta krāsvielas flakoni ir jāuzglabā tumsā.



Zonde paliek stabila normālas lietošanas ietvaros noteikojos sasaldēšanas/atkausēšanas ciklos (vienu ciklu veido zondes izņemšana no saldētavas un ievietošana atpakaļ saldētavā) un ir fotostabila līdz pat 48 stundām pēc nonākšanas pārāk viga apgaismojuma apstākļu ietekmē. Ir jāveic viiss iespējamais, lai ierobežotu gaismas un temperatūras svārstību ietekmi.

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

Izjāzmanto kalibrēts aprīkojums.

1. Sildierīce (ar cietu sildvirsmu un precīzu temperatūras regulēšanu līdz pat 80 °C)
2. Kalibrētas dažāda tilpuma mikropipetes un uzgalī 1–200 μl diapazonā.
3. Ūdens vanna ar precīzu temperatūras regulēšanu — 37 °C un 72 °C
4. Mikrocentrifugas mēģenes (0,5 ml)
5. Luminiscences mikroskops (sk. sadaļu Ieteikumi attiecībā uz luminiscences mikroskopu)
6. Fāžu kontrasta mikroskops
7. Tīri plastmasas, keramikas vai karstumizturīga stikla Koplina trauki
8. Pincete
9. Kalibrēta pH mērierce (vai pH indikatora strēmeles, ar kurām var veikt mērījumus pH 6,5–8,0 diapazonā)
10. Konteiners ar mitru vidi
11. Luminiscencei atbilstoša mikroskopa objektīva iegremdēšanas eļļa
12. Galda centrifūga
13. Mikroskopa priekšmetstiklini
14. 24x24 mm segstiklini
15. Taimeris
16. 37 °C inkubators
17. Gumijas līme
18. Virpulmaisītājs
19. Mērcilindri
20. Magnētiskais maisītājs
21. Kalibrēts termometrs

Papildaprīkojums, kas nav ietverts komplektācijā

1. Citoģēnētiskā žāvēšanas kamera

Nepieciešamie reāgenti, kas nav ietverti komplektācijā

1. 20x citrāta fizioloģiskais šķidums (saline-sodium citrate — SSC)
2. 100% etanolis
3. Tween-20
4. 1M nātrija hidroksīds (NaOH)
5. 1M sālskābe (HCl)
6. Attīrtis ūdens

Uz luminiscences mikroskopu attiecīmie ieteikumi

Lai nodrošinātu optimālu vizualizāciju, izmantojiet 100 W dzīvsudraba spuldzi vai ekvivalentu gaismas avotu un eļļā iegremdējamus 60/63x vai 100x objektīvus. Šajā zonu komplektā izmantotie fluorofori tiks ierosināti un izstaros tālāk norādītā garuma viļņos.

Fluorofors	Ierosme _{maks.} [nm]	Izstarošana _{maks.} [nm]
Zalš	495	521
Sarkans	596	615

Nodrošiniet, lai mikroskops būtu aprīkots ar iepriekš norādītajiem viļņa garumiem atbilstošiem ierosmes un izstarošanas filtriem. Lai nodrošinātu optimālu zaļo un sarkanu fluoroforu vienlaicīgu vizualizāciju, izmantojiet trīsjoslu DAPI/zaļā spektra/sarkanā spektrafiltru vai divjoslu zaļā spektra/sarkanā spektra filtru.

Pirms lietošanas pārbaudiet luminiscences mikroskopu, lai pārliecīnatos, vai tas darbojas pareizi. Izmantojiet iegremdēšanas eļļu, kas piemērota luminiscences mikroskopijai un nodrošina zemu autoluminiscences līmeni. Izvairieties no DAPI luminiscences uzturēšanas šķiduma sajaukšanās ar mikroskopa iegremdēšanas eļļu, jo pretējā gadījumā radīsies signāla traucējumi. Rīkojieties atbilstoši ražotā ieteikumiem attiecībā uz spuldzes un filtru kalpošanas ilgumu.

Paraugu sagatavošana

Šis komplekts ir paredzēts izmantošanai ar hematoloģiski iegūtām ūdens suspensijām, kas fiksētais Karnauša šķiduma (3:1 metands/etikskābe) fiksatorā un ir sagatavotas atbilstoši laboratorijā vai iestādē spēkā esošajām vadlīnijām. Sagatavojiet gaisā nozīmētu paraugu uz mikroskopa priekšmetstikliniem atbilstoši standarta citoģēnētiskajām procedūrām. AGT citoģēnētiskas laboratorijas rokasgrāmatā ir ietverti ieteikumi par paraugu nēmšanu, kultūrēšanu, ievākšanu un priekšmetstiklinu sagatavošanu⁷.

Šķidumu sagatavošana

Etanolā šķidumi

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

- 70% etanolis — 7 daļas 100% etanola ar 3 daļām attīrtā ūdens
- 85% etanolis — 8,5 daļas 100% etanda ar 1,5 daļām attīrtā ūdens

Glabājiet šķidumus līdz pat 6 mēnešiem istabas temperatūrā hermētiski noslēdzamā konteinerā.

2xSSC šķidums

Atšķaidiet 1 daļu 20xSSC šķiduma ar 9 daļām attīrtā ūdens un rūpīgi samaisiet. Pārbaudiet pH līmeni un nodrošiniet, lai tā pH būtu 7,0, pēc nepieciešamības izmantojot NaOH vai HCl. Uzglabājiet šķidumu līdz pat 4 mēnešu ilgumā istabas temperatūrā hermētiski noslēdzamā konteinerā.

0,4xSSC šķidums

Atšķaidiet 1 daļu 20xSSC šķiduma ar 49 daļām attīrtā ūdens un rūpīgi samaisiet. Pārbaudiet pH līmeni un nodrošiniet, lai tā pH būtu 7,0, pēc nepieciešamības izmantojot NaOH vai HCl. Uzglabājiet šķidumu līdz pat 4 mēnešu ilgumā istabas temperatūrā hermētiski noslēdzamā konteinerā.

2xSSC, 0,05% Tween-20 šķidums

Atšķaidiet 1 daļu 20xSSC šķiduma ar 9 daļām attīrtā ūdens. Pievienojet 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 šķidumu līdz pat 4 mēnešu ilgumā istabas temperatūrā hermētiski noslēdzamā konteinerā.

Luminiscētās in situ hibridizācijas protokols

(Piezīme. Nodrošiniet, lai zonde un kontrasta krāsviela pēc iespējas mazāk tikt pakļauta laboratorijas apgaismojuma iedarbībai.)

Priekšmetstiklinu sagatavošana

1. Novietojiet šūnu paraugu uz mikroskopa priekšmetstiklini, kas izgatavots no stikla. Ľaujiet nozūt. (Pēc izvēles, ja tiek izmantota citoģēnētiskā žāvēšanas kamera: priekšmetstiklinu sagatavošanai izjāzmanto citoģēnētiskā žāvēšanas kamera. Lai nodrošinātu optimālu ūnu parauga sagatavošanu, kamera jādarbina, iestatot aptuveni 25 °C temperatūru un 50% mitruma. Ja citoģēnētiskā žāvēšanas kamera nav pieejama, kā alternatīvu var izmantot gāzu nosūcēju).
2. Iegremdējiet priekšmetstiklinu 2xSSC šķidumā istabas temperatūrā uz 2 minūtēm, neievicot maišīšanu.
3. Veiciet dehidrēšanas etanolās sērijas (70%, 85% un 100%), katru 2 minūtes istabas temperatūrā.
4. Ľaujiet nozūt.

Priekšdenaturešana

5. Izņemiet zondi no saldētavas un ļaujiet tai sasilt līdz istabas temperatūrai. Pirms mēģēju lietošanas brīdi tās centrifugējiet.
6. Izmantojot pipeti, pārliecīnieties, vai zondes šķidums ir viendabīgi samaisīts.
7. Panemiet 10 μl zondes šķiduma katram testam un pārnesiet to uz mikrocentrifugas mēģeni. Atlikušo zondes šķidumu nekavējoties ievietojiet atpakaļ saldētavā.
8. Novietojiet zondi un parauga priekšmetstiklinu uz sildierīces un veiciet priekšsildēšanu 37 °C (+/- 1 °C) temperatūrā 5 minūtes.
9. Uzlieciet 10 μl zondes maišījuma uz ūnu parauga un rūpīgi uzlieciet segstiklini. Hermetizējiet ar gumijas līmi un ļaujiet līmei pilnībā nozūt.

Denaturešana

10. Veiciet parauga un zondes vienlaicīgu denaturešanu, sildot priekšmetstiklinu uz sildierīces 75 °C (+/- 1 °C) temperatūrā 2 minūtes.

Hibridizācija

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

Skalošana pēc hibridizācijas

12. Izņemiet DAPI no saldētavas un ļaujiet tam sasilt līdz istabas temperatūrai.
13. Noņemiet segstiklini un rūpīgi notrieti visas līmes atliekas.
14. Iegremdējiet priekšmetstiklinu 0,4xSSC (pH 7,0) 72 °C (+/- 1 °C) temperatūrā uz 2 minūtēm nemaisot.
15. Noteiniet šķidrumu no priekšmetstiklini un iegremdējiet to 2xSSC, 0,05% Tween-20 šķidumā istabas temperatūrā (pH 7,0) uz 30 sekundēm nemaisot.
16. Noteiniet šķidrumu no priekšmetstiklini un katram paraugam pievienojiet 10 μl DAPI luminiscences uzturēšanas līdzekli.
17. Uzlieciet segstiklini, likvidējiet burbulus un ļaujiet krāsai tumsā attīstīties 10 minūtes.
18. Skatiet luminiscences mikroskopā (sk. Ieteikumi attiecībā uz luminiscences mikroskopu).

Sagatavoto priekšmetstiklinu stabilitāte

Sagatavotie priekšmetstiklini ir analizējami 1 mēneša periodā, ja tiek glabāti tumsā un istabas temperatūrā vai par istabas temperatūru zemākā temperatūrā.

Ieteikumi attiecībā uz procedūru

1. Priekšmetstiklinu karsēšana vai novecošana var samazināt signāla luminiscenci.
2. Tādu reāgentu izmantošana, kas nav uzņēmuma Cytocell Ltd. nodrošināta arī vāi ieteiktie reāgenti, var nelabvēlgī ietekmēt hibridizācijas apstākļus.
3. Šķidumu, ūdens vannu un inkubatoru temperatūras mērišanai izjāzmanto kalibrēts termometrs, jo norādītās temperatūras ievērošana ir kritisīga produktā optimālas veikspējas nodrošināšanai.
4. Skalošanas šķidumu koncentrācijas, pH vērtības un temperatūras vērtības ir svarīgas, jo pārāk lielas pielāides gadījumā iespējama nespecifiska sasaistība, savukārt pārāk mazas pielāides gadījumā iespējama signāla nepietiekamība.
5. Nepilnīga denaturēšana var izraisīt signāla nepietiekamību, savukārt pārmērīga denaturēšana arī var izraisīt nespecifisku sasaistību.
6. Pārmērīgas hibridizācijas dēļ iespējami papildu vai neparedzēti signāli.
7. Pirms testa izmantošanas diagnostikas nolūkiem lietotājiem 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 priekšmetstiklīna 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 salipušu/pārkājošos šūnu, kas traucē veikt analīzi.
- >50% šūnu nav hibridizētas.
- Starp šūnām atrodas pārāk daudz luminiscējošo dalīju un/vai luminiscējošs aizmuglojums, kas rada signāla traucējumus, — optimālā priekšmetstiklīnā ar paraugu fonam jābūt tumšam vai melnam un tīram.
- Šūnu kodolu robežas nav izšķiramas un nav veselas.

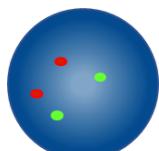
Uz analīzi attiecināmās vadlīnijas

- 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 katras parauga. Pirmajam laboratorijas speciālistam jāsāk analīze no priekšmetstiklīna kreisās pusēs, savukārt otram laboratorijas speciālistam — no priekšmetstiklīna labās pusēs.
- Katram laboratorijas speciālistam jādokumentē savi rezultāti atsevišķas lapās.
- Ir jāanalizē tikai veseli kodoli, nevis pārkājošies kodoli, sablīvējušies kodoli vai kodoli, kurus sedz citoplazmatiskās atliekas vai augsta līmeņa autoluminiscēcija.
- Jāizvairās no zonām ar pārmēriku citoplazmatisko atlieku apjomu vai nespecifisku hibridizāciju.
- Signāla intensitāte var būt mainīga, pat vienā kodolā. Šādos gadījumos izmantojet atsevišķus filtri un/vai pielāgojiet fokālo plakni.
- Ja apstākļi nav pietiekami optimāli, signāli var šķist izkliedēti. Ja divi vienādās krāsas signāli savstarpēji saskaras vai attālums starp tiem nepārsniedz divus signāla platumus, vai arī abus signālus savieno tikko redzams pavediens, šie signāli ir uzskaņāmi 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 pārkājošos 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

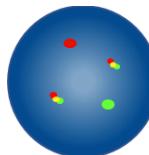
Paredzamie rezultāti

Paredzamais normālu signālu modelis



Normāla šūnā ir paredzami divi sarkanai un divi zaļi signāli (2S, 2Z).

Paredzamais anormālo signālu modelis



Šūnā ar t(8;14)(q24.21;q32.3) translokāciju paredzamais signālu modelis ir viens sarkans, viens zaļš un divas fūzijas (1S, 1Z, 2F).

Citi signālu modeli ir iespējami aneiplōdīs/nelīdzvarotos paraugos. Nemiet vērā, ka citu tādu IGH pārkātojumu gadījumā, kas nav IGH-MYC translokācija, zaļais IGH signāls var izskatīties sadalīts.

Zināmā krusteniskā reakcija

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

Zīnošana par nevēlamiem notikumiem

Ja uzskaņāt, ka ir radušies šīs ierīces darbības traucējumi vai tās veikts pēdas rādītāji ir pasliktinājušies, iespējami izraisot nelabvēlu notikumu (piemēram, novēlotu vai nepareizu diagnostiķi, novēlotu vai nepiemērotu terapiju), par to nekavējoties jāziņo ražotājam (e-pasta adrese: vigilance@ogt.com).

Bar šādu notikumu arī var būt jāziņo kompetentajai iestādei attiecīgajā valstī. Kontaktersonu medicīnas ierīču kontroles jautājumos saraksts ir atrodams šajā vietnē: <http://ec.europa.eu/growth/sectors/medical-devices/contacts/>.

Specifiskās veikspējas raksturlielumi

Analītiskais specifiskums

Analītiskais specifiskums tiek izteikts kā to signālu procentuālā vērtība, kas hibridizējas ar pareizo lokusu un nekādu citu vietu. Analītiskais specifiskums tiek noteikts, veicot 200 mērķa lokusu analīzi. Analītiskais specifiskums tiek noteikts, luminiscentās in situ hibridizācijas signālu, kas hibridizējās ar pareizo lokusu, skaitu izdalot ar hibridizēto luminiscentās in situ hibridizācijas signālu kopskaitu.

1. tabula Zondes IGH/cMYC (MYC) Translocation, Dual Fusion Probe analītiskais specifiskums

Zonde	Mērķa lokuss	Ar pareizo lokusu hibridizēto signālu skaits	Hibridizēto signālu kopskaitis	Specifiskums (%)
Sarkans cMYC	8q24.21	200	200	100
Zaļš IGH	14q32.3	200	200	100

Analītiskais jutīgums

Analītiskais jutīgums tiek izteikts kā novērtējamu interfāzes šūnu ar paredzamu normālo signālu modeli procentuālā vērtība. Analītiskais jutīgums tiek noteikts, analīzējot interfāzes šūnas dažādos normālos paraugos. Jutīgums tiek aprēķināts kā novērtējamo šūnu ar paredzamu signālu modeli procentuālā vērtība (ar 95% ticamības intervālu).

2. tabula Zondes IGH/cMYC (MYC) Translocation, Dual Fusion Probe analītiskais jutīgums

Šūnu ar paredzamiem signālu modeļiem skaits	Šūnu ar novērtējamiem signāļiem skaits	Jutīgums (%)	95% ticamības intervāls
479	500	95,8	1,0

Normalitātes robežvērtību raksturojums

Uz luminiscentās in situ hibridizācijas zondēm attiecināmā normalitātes robežvērtība ir novērtējamu interfāzes šūnu ar specifisku anormālo signālu modeli, ar kādu paraugs ir uzskaņāms par normālu attiecībā uz šādu signālu modeli, maksimālā procentuālā vērtība.

Normalitātes robežvērtību tiek noteikta, izmantojot paraugus no normāliem un pozitīviem pacientiem. Katram paraugam tiek reģistrēti 100 šūnu signālu modeļi. Tie tiek aprēķināti Jūdenainekss, lai noteiku robežvērtību, kurai ir maksimāls jutīgums + specifiskums -1.

3. tabula Zondes IGH/cMYC (MYC) Translocation, Dual Fusion Probe normalitātes robežvērtību raksturojums

Anomālu signālu modelis	Jūdena indekss	Normalitātes robežvērtība (%)
1S, 1Z, 2F	1,00	2

Laboratorijām jāveic robežvērtību verifikācija, izmantojot savus datus^{8,9}.

Precizitāte un reproducējamība

Precizitāte ir testa dabīgo atšķirību rādītājs, testu atkārtojot vairākas reizes vienādās apstākļos. Šīs rādītājs tiek noteikts, analīzējot atkārtotu vienu paraugu testēšanu ar zondēm no vienas partijas, vienādās apstākļos un vienā dienā.

Reproducējamība ir testa variabilitātes rādītājs un ir noteikta, nemot vērā paraugu līmeņa, dienas līmeņa un partijas līmeņa variabilitāti. Dienas līmeņa

reprodukējamība 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. Paraugu līmeņa reproducējamība tika noteikta, analizējot trīs parauga replikātus vienā dienā. Katram paraugam tika reģistrēti 100 interfāzes šūnu signālu modeli un tika aprēķināta šūnu ar paredzamo signālu modeli procentuālā vērtība.

Reprodukējamība un precīzitāte tika aprēķinātas kā standartnovirze (Standard Deviation — STDEV) starp replikātiem katram mainīgajam, kā arī vispārējā vidējā STDEV.

4. tabula Zondes IGH/cMYC (MYC) Translocation, Dual Fusion Probe reproducējamība un precīzitāte

Mainīgais	Standartnovirze (STDEV)
Precīzitāte	0,00
Paraugu līmeņa	0,00
Dienas līmeņa	0,00
Partijas līmeņa	0,00
Vispārīgā novirze	0,00

Kliniskā veikspēja

Kliniskā veikspēja tika noteikta, izmantojot produkta paredzēto populāciju reprezentējošu paraugu. Katram paraugam tikareģistrēti ≥ 100 interfāzes šūnu signālu modeli. Normalitāte/anormalitāte tika noteikta, salīdzinot šūnu ar specifisku anormālo signālu modeli procentuālo vērtību ar normalitātes robežvērtību. Rezultāti pēc tam tika salīdzināti ar zināmo parauga statusu.

Klinisko datu rezultāti tika analizēti, lai iegūtu jutīguma, specifiskuma un normalitātes vērtības, izmantojot viendimensionālu pieeju.

5. tabula Zondes IGH/cMYC (MYC) Translocation, Dual Fusion Probe kliniskā veikspēja

Mainīgais	Rezultāts
Kliniskais jutīgums (pareizi pozitīvo rezultātu rādītājs (true positive rate — TPR))	100%
Kliniskais specifiskums (pareizi negatīvo rezultātu rādītājs (true negative rate — TPR))	100%
Klūdaini pozitīvo rezultātu rādītājs (false positive rate — FPR) = 1 - specifiskums	0%

Papildinformācija

Lai saņemtu papildinformāciju par produktu, sazinieties ar CytoCell tehniskā atbalsta nodalju.

Tālr.: +44 (0)1223 294048

E-pasts: techsupport@cytocell.com

Timeklī: www.ogt.com

Atsauces

- Perkins AS, Friedberg JW, Hematology Am Soc Hematol Educ Program. 2008;341-8
- Ott G, et al., Blood. 2013 Dec 5;122(24):3884-91
- Walker BA, et al., Blood Cancer J. 2014;4(3)
- Elyamany G, et al., Adv Hematol 2015;2015:315289
- Joos et al., Human Molecular Genetics 1992;1(8):625-32
- Erikson J et al., Proc Natl Acad Sci USA 1983;80(3):820-4
- 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. *Predclinical validation of fluorescence in situ hybridization assays for clinical practice*. Genetics in Medicine. 2006;8(1):16-23.

Simbolu skaidrojums

REF	Iv: Kataloga numurs
	Iv: In vitro diagnostikai paredzēta medicīnas ierīce
	Iv: Partijas kods
	Iv: Skatīt lietošanas instrukciju
	Iv: Ražotājs
	Iv: Derīguma termiņš
	Iv: Temperatūras ierobežojums -25°C → -15°C
	Iv: Sargāt no saules gaismas
	Iv: Saturis ir pietiekams $<n>$ testiem
	Iv: Saturis

Patenti un preču zīmes

CytoCell ir SIA Cytocell reģistrēta 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-pasts: probes@cytocell.com
Timeklī: www.ogt.com