



A Sysmex Group Company



Kasutusjuhend

REF: LPH 039-S / LPH 039

Sond CKS1B/CDKN2C (P18) Amplification/Deletion Probe



AINULT ERIALASEKS KASUTAMISEKS



www.cytocell.com

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

Piirangud

Seade on loodud tuvastama genoomilisi lisasid või kadusid, mis on suuremad kui sondikomplekti punase või rohelise klooniga kaetud piirkond, mis sisaldab piirkondi *CKS1B* ja *CDKN2C (P18)*. Piirkonnast välja poole jäävaid genoomilisi lisasid või kadusid või piirkonna osalisi lisasid või 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 jätmise võib mõjutada analüüsi toimivust ja põhjustada valepositiivseid/negatiivseid tulemusi.

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

Kasutusotstarve

Sond CytoCell CKS1B/CDKN2C (P18) Amplification/Deletion Probe on kvalitatiivne, mitteautomaatne, fluorestsents *in situ* hübridisatsiooni (FISH) uuring, mida kasutatakse 1. kromosoomi 1p32.3 ja 1q21 piirkondade kromosomaalsete lisade ja deletsioonide tuvastamiseks Carnoy lahuses (3:1 metanool/atseetahape) fikseeritud hematoloogilist tuletatud rakuspensioonides, mis pärinevad kinnitatud või kahtlustatud hulgemüeloomiga (MM) patsientidelt.

Näidustused

See toode on loodud täiendusena teistele kliinilistele ja histopatoloogilistele uuringutele tunnustatud diagnostilistes ja kliinilistes raviteedes, kus teadmised *CKS1B* või *CDKN2C (P18)* oleku kohta on kliinilise ravi seisukohalt olulised.

Analüüsi põhimõte

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

Sondi teave

CKS1B (CDC28 proteiinkinaasi regulatoorne alamühik 1B) geen on asukohas 1q21.3 ja *CDKN2C (tsükliinist sõltuv kinaasi inhibiitor 2C)* geen on asukohas 1p32.3.

1q21 piirkonna lisa, mis sisaldab *CKS1B*, on üks kõige sagedamini esinevatest kromosomaalsetest aberratsioonidest hulgemüeloomi puhul¹. *CKS1B* geeni üleekspressioon reguleerib rakutsükli progressiooni üles, mis põhjustab proliferatiivsema haiguse². See on seotud hulgemüeloomi edasiarenenud fenotüübiga, mistõttu võib seda seostada halva prognoosi ja haiguse progressiooniga^{1,2,3}. 1q21 lisa on seostatud halvema elulemusega ja haiguse relapsi korral on leitud täiendavat amplifikatsiooni. 1. kromosoomi pika öla täielikud lisad esinevad samuti sageli hulgemüeloomi korral ja võivad esineda isokromosoomidena, duplikatsioonide või hüppamistranslokatsioonidena ning neid seostatakse sageli haiguse progressiooniga⁴.

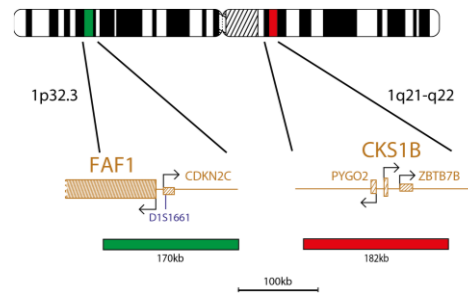
CDKN2C on tuumorsupressorgeen, mis vastatab apoptootilise rakusurma indutseerimise ja DNA fragmenteerimise eest⁵. See on ülesreguleeritud tsütokiini IL-6 ekspressiooniga hulgemüeloomi korral ja geeni homosügootset deletsiooni seostatakse proliferatiivsema haigusega⁵. Kuigi on teatatud, et *CDKN2C* deletsioonid on inimese pahaloomuliste protsesside korral harvaesinevad, on tsütogeneetiliste analüüsidega näidatud, et 1p32–36 kõrvalekaldeid esineb ligikaudu 16% inimese hulgemüeloomi juhtudest ja need on seotud negatiivsema üldise elulemusega^{2,3,5,6}.

Tsütogeneetilisi kõrvalekaldeid leitakse tavapärase tsütogeneetiliste meetoditega ligikaudu ühel kolmandikul hulgemüeloomi juhtudest, kuid FISH suurendab kromosomaalsete kõrvalekallete osakaalu >90%⁷.

Sondi spetsifikatsioon

CKS1B, 1q21-q22, punane

CDKN2C (P18), 1p32.3, roheline



CKS1B/CDKN2C toode sisaldab 182 kb kogu *CKS1B* geeni ja piirnevaid piirkondi, sh *PYGO2* ja *ZBTB7B* gene hõlmavat punasega märgistatud sondi ja rohelist sondi, mis hõlmab 170 kb piirkonda, mis sisaldab kogu *CDKN2C* geeni, markerit *D1S1661* ja *FAF1* geeni tsentromeerset otsa.

Tarnitavad materjalid

Sond 50 µl vialii kohta (5 analüüsi) või 100 µl vialii kohta (10 analüüsi)

Sonidid tarnitakse eelsegatuna hübridiseerimislahuses (formamiid; dekstraansulfaat; naatriumtsitraadi soolalahus (saline-sodium citrate, SSC)) ja on valmis kasutamiseks.

Vastandvärv 150 µl vialii kohta (15 analüüsi)

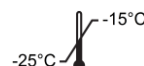
Vastandvärv on DAPI, pleekimisvastane (Sisaldus: 0,125 µg/ml DAPI (4,6-diamidino-2-fenüülindool).

Hoiatused ja ettevaatusabinõud

- In vitro* diagnostiliseks kasutamiseks. Ainult erialaseks kasutamiseks.
- DNA sondide ja DAPI vastandvärvi käsitsemisel kandke kindaid.
- Sondi segud sisaldavad formamiidi, mis on teratogeenne; ärge hingake sisse aure ning vältige kontakti nahaga. Käsitsege ettevaatlikult; kasutage kindaid ja laborikitlit.
- DAPI on potentsiaalne kartsinogeen. Käsitsege ettevaatlikult; kasutage kindaid ja laborikitlit.
- Vabanegede kõigist ohtlikest jäätmest oma asutuse ohtlike jäätmete käitlemise eeskirjade kohaselt.
- Kasutajad peavad olema suutelised eristama punast, sinist ja rohelist värvi.
- Esitatud protokoll ja reaktiivide järgimata jätmise võib mõjutada analüüsi toimivust ja põhjustada valepositiivseid/valenegatiivseid tulemusi.
- Sondi ei tohiks lahjendada ega segada teiste sondidega.
- Sondi 10 µl kasutamata jätmise protokoll denatureerimisees etapis võib mõjutada analüüsi toimivust ja põhjustada valepositiivseid/valenegatiivseid tulemusi.

Säilitamine ja käsitsemine

Komplekti tuleks säilitada külmutatuna temperatuurivahemikus -25...-15 °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 tsüklid kestab sondi eemaldamisest külmutust kuni sinna tagasipanekuni) ja on fotostabiilne kuni 48 tundi peale pideva valgusega kokkupuudet. Piirake iga hinna eest kokkupuudet valgusega ja temperatuurimuutustega.

Seadmed ja materjalid mis on vajalikud, kuid mida ei tarnita

Kasutada tuleb kalibreeritud seadmeid.

1. Kuumutusplaat (täisplaadi ja täpse temperatuuriregulaatoriga kuni 80 °C)
2. Kalibreeritud erineva mahuga mikropipetid ja otsikud vahemikus 1–200 µl
3. Vesivann, täpse temperatuuriregulaatoriga 37 °C ja 72 °C juures
4. Mikrotsentrifuugi katsutid (0,5 ml)
5. Fluorestsentsmikroskoop (vt fluorestsentsmikroskoobi soovitude lõiku)
6. Faasikontrastmikroskoop
7. Läbipaistvast plastist, keraamilised või kuumakindlast klaasist Coplini anumad
8. Pintsetid
9. Kalibreeritud pH-meeter (või pH indikaatorribad vahemikus pH 6,5–8,0)
10. Niiskuskamber
11. Fluorestsentsmikroskoobi immersioonõli
12. Tsentrifuug
13. Mikroskoobi alusklaasid
14. 24x24 mm katteklasisid
15. Taimer
16. 37 °C inkubaator
17. Katteklasi liim
18. Vortex-segisti
19. Gradueeritud silindrid
20. Magnetsegisti
21. Kalibreeritud termomeeter

Valikulisemad 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 soovitus

Kasutage optimaalseks visualiseerimiseks 100-vatist elavhõbelampi või sellega samaväärset ning immersioonõliga apokromaatsset objektiivi 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 hematoloogiliselt tuletatud rakususpensioonidega, mis on fikseeritud Carnoy lahuses (3:1 metanool/atseethape) ja ette valmistatud vastavalt labori või asutuse eeskirjadele. Valmistage ette õhu käes kuivatatud mikroskoobi alusklaasid vastavalt tsütogeneetika standardprotseduuridele. AGT *Tsütogeneetika laborijuhend* sisaldab soovitusi proovi kogumise, kultuuri istutamise, kogumise ja slaidi tegemise kohta⁸.

Lahuse ettevalmistamine

Etanooli lahused

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

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

2x SSC lahust

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

0,4 x SSC lahust

Lahjendage 1 osa 20-kordset SSC lahust 49 osa destilleeritud veega ja segage põhjalikult. Kontrollige pH-d ja kohandage, kuni pH on 7,0, kasutades NaOH või HCl vastavalt vajadusele. Säilitage lahust kuni 4 nädalat toatemperatuuril õhukindlas nõus.

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

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

FISH-i protokoll

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

Slaidi ettevalmistamine

1. Tilgutage rakuproov mikroskoobi klaasist alusklaasile. Laske kuivada. (**Valikuline, kui kasutatakse tsütogeneetilist kuivatuskambrit:** slaidid tuleks valmistada tsütogeneetilist kuivatuskambrit kasutades. Optimaalseks slaidi valmistamiseks tuleks kambrit kasutada temperatuuril ligikaudu 25 °C ja õhuniiskusel 50%. (Kui tsütogeneetiline kuivatuskamber ei ole kättesaadav, kasutage alternatiivina tõmbekappi).
2. Kaste 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. Tsentrifuugige katsuteid lühidalt enne kasutamist.
6. Veenduge, et sondi lahust on ühtlaselt segunenud, kasutades pipetti.
7. Eemaldage 10 µl sondi analüüsi kohta ja viige see mikrotsentrifuugi katsutisse üle. Tagastage ülejäänud sond kiiresti külmikusse.
8. Asetage sond ja proovislaid 5 minutiks kuumutusplaadile eelsoojenema temperatuurile 37 °C (+/-1 °C).
9. Tilgutage 10 µl sondisegu rakuproovile ja asetage ettevaatlikult katteklasi. Lisage katteklasi liim ja laske liimil täielikult kuivada.

Denaturatsioon

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

Hübridisatsioon

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

Hübridisatsioonijärgsed pesud

12. Eemaldage DAPI külmikust ja laske soojeneda toatemperatuurile.
13. Eemaldage ettevaatlikult katteklasisid ja kõik liimijäljed.
14. Kaste slaidid 2 minutiks ilma segamata 0,4-kordsesse SSC lahusesse (pH 7,0) temperatuuril 72 °C (+/-1 °C).
15. Kuivatage slaid ja kaste 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 katteklasisiga, eemaldage mullid ja laske värvil pimedas kujuneda 10 minutit.
18. Vaadake fluorestsentsmikroskoobiga (vt **Fluorestsentsmikroskoobi soovitus**).

Valmis slaidide stabiilsus

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

Protseduuri soovitus

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

Tulemuste tõlgendamine

Slaidi kvaliteedi hindamine

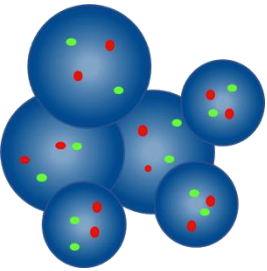
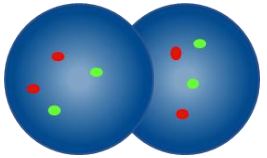
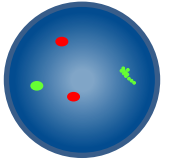
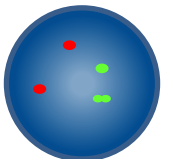
Slaidi ei tohiks analüüsida, kui

- 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.

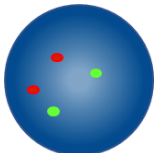
Analüüsi eeskirjad

- 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 paremalt küljelt.
- Iga analüütik peaks oma tulemused üles märkima eraldi andmekandjale.
- Analüüsige vaid terviklikke tuumi, mitte kattuvaid või kokkukleepunud või tsütoplasma jääkidega kaetud ega autofluorestseerivaid 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 alad ei ole näha
	Lugeda kahe kontrollsignaalina, kui üks kahest punasest signaalist on difuusne
	Lugeda kahe kontrollsignaalina, kui ühe rohelise signaali tühik on kahest signaalipikkusest väiksem

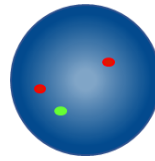
Eeldatavad tulemused

Eeldatav normaalne signaalimuster

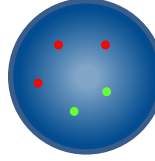


Normaalse raku eeldatav tulemus on kaks punast ja kaks rohelist signaali (2P, 2R).

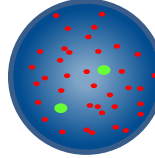
Eeldatav ebanormaalne signaalimuster



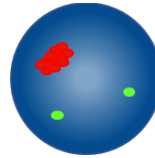
1p32.3 deletsiooniga raku eeldatav signaalimuster kaks punast ja ühe roheline signaal (2P, 1R).



1q21 lookuse lisaga raku eeldatav signaalimuster on kaks rohelist ja kolm või enam punast signaali (xP, 2R).



Topeltminuteid põhjustava 1q21 lookuse amplifikatsiooniga raku on kogu tsütoplasmas näha palju väikseid punaseid signaale koos kahe rohelise kontrollsignaaliga (xP, 2R).



Homogeenselt värvuvat piirkonda põhjustava 1q21 lookuse amplifikatsiooniga raku on näha palju punaseid signaale mööda pikenenud ja laienuvad kromosomaalset segmenti koos kahe rohelise kontrollsignaaliga (xP, 2R).

Aneuploidsete/tasakaalustamata proovides võivad esineda teised signaalimustrid.

Teadaolev ristreaktiivsus

Teadaolev ristreaktiivsus puudub.

Kõrvalnähtudest teatamine

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

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

Tabel 1. Sondi CKS1B/CDKN2C (P18) Amplification/Deletion Probe analüütiline spetsiifilisus

Sond	Sihtmärk-lookus	Õige lookusega hübriidiseeritud signaalide arv	Hübriidiseeritud signaalide koguarv	Spetsiifilisus (%)
Punane CKS1B	1q21	200	200	100
Roheline CDKN2C	1p32.3	200	200	100

Analüütiline tundlikkus

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

Tabel 2. Sondi CKS1B/CDKN2C (P18) Amplification/Deletion Probe analüütiline tundlikkus

Eeldatava signaalimustriga rakkude arv	Hinnatava signaaliga rakkude arv	Tundlikkus (%)	95% usaldusvahemik
477	500	95,4	3,1

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. Arvutati Youdeni koefitsient, et leida läviväärtus, mille korral Tundlikkus + Spetsiifilisus-1 on maksimaalne.

Tabel 3. Sondi CKS1B/CDKN2C (P18) Amplification/Deletion Probe normaalse väljaarvamise piirväärtuste kirjeldus

Ebanormaalne signaalimuster	Youdeni koefitsient	Normaalne väljaarvamise piir (%)
3R, 2G	0,98	4

Laborid peavad oma andmete põhjal väljaarvamise piiri kinnitama^{9,10}.

Täpsus ja reprodutseeritavus

Täpsus on analüüsi loomulik varieeruvus korduvalt, samades tingimustes läbiviimisel. Seda hinnati, analüüsides sama partii numbriga 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 replikaadi analüüsimisel samal päeval. Iga proovi kohta salvestati 100 interfaasi raku signaalimuster ja arvutati eeldatava signaalimustriga rakkude protsent.

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

Tabel 4. Sondi CKS1B/CDKN2C (P18) Amplification/Deletion Probe reprodutseeritavus ja täpsus

Muutuja	Standardhälve (SH)
Täpsus	0,77
Proov-prooviga	0,53
Päev-päevaga	0,38
Partii-partiiga	0,58
Hälve	0,59

Kliiniline toimivus

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

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

Tabel 5. Sondi CKS1B/CDKN2C (P18) Amplification/Deletion Probe kliiniline toimivus

Muutuja	Tulemus
Kliiniline tundlikkus (tõeselt positiivsete määr) (true positive rate, TPR)	98,1%
Kliiniline spetsiifilisus (tõeselt negatiivsete määr) (true negative rate, TNR)	99,8%
Valepositiivsete määr (false positive rate, FPR) = 1 – spetsiifilisus	0,2%

Lisateave

Lisateavet saate kontakteerudes ettevõtte CytoCell tehnilise toe osakonnaga.

Tel: +44 (0)1223 294048

E-mail: techsupport@cytoCELL.com

W: www.ogt.com

Viited

- Hanamura I, Blood 2006;108(5):1724-32
- Fonseca *et al.*, Leukemia 2009;23(12):2210-2221
- Sawyer, Cancer Genetics 2011;204(1):3-12
- Fonseca *et al.*, Leukemia 2006;20(11):2034-40
- Leone *et al.*, Clin Cancer Res 2008;14(19):6033-41
- Kulkarni *et al.*, Leukemia 2002;16:127-34
- Swerdlow *et al.*, (eds.) WHO Classification of Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissue, Lyon, France, 4th edition, IARC, 2017
- Arsham, MS., Barch, MJ. and Lawce HJ. (eds.) (2017) *The AGT Cytogenetics Laboratory Manual*. New Jersey: John Wiley & Sons Inc.

- Mascarello JT, Hirsch B, Kearney HM, et al. Section E9 of the American College of Medical Genetics technical standards and guidelines: fluorescence in situ hybridization. Genet Med. 2011;13(7):667-675.
- Wiktor AE, Dyke DLV, Stupca PJ, Ketterling RP, Thorland EC, Shearer BM, Fink SR, Stockero KJ, Majorowicz JR, Dewald GW. *Preclinical validation of fluorescence in situ hybridization assays for clinical practice*. Genetics in Medicine. 2006;8(1):16–23.

Sümbolite seletus

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