



A Sysmex Group Company



Lietošanas instrukcija

REF: LPH 020-S/LPH 020

Zonde Del (20q) Deletion Probe



TIKAI PROFESIONĀLAM LIETOJUMAM



www.cytocell.com

Papildinformācija un informācija citās valodās ir pieejama vietnē
www.ogt.com

Ierobežojumi

Šī ierīce ir paredzēta tādu genomisko zudumu noteikšanai, kuru lielums pārsniedz reģionus, ko nosedz sarkanie un zaļie kloni šajā zonu komplektā, kuros ietilpst reģioni 20q12 un 20q13.1. Izmantojot šo produktu, var netikt noteikti genomiskie zudumi ārpus šī reģiona vai daļēji šī reģiona zudumi.

Šis tests nav paredzēts: izmantošanai autonoma diagnostikas līdzekļa statusā, prenatalai testēšanai, konkrētu populāciju skrīningam, testēšanai ārpus laboratorijas un paštestēšanai. Šis produkts ir paredzēts tikai profesionālai lietošanai laboratorijās; visu rezultātu interpretēšana jāveic atbilstoši kvalificētiem darbiniekiem, ņemot vērā citu attiecīnāmo testu rezultātus.

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

Ziņošana par luminiscētās in situ hibridizācijas rezultātiem un to interpretēšana ir jāveic atbilstoši profesionālajiem prakses standartiem un ir jāņem vērā cita klīniskā un diagnostikas informācija. Šis komplekts ir paredzēts kā citu diagnostisko laboratorijas testu palīg līdzeklis, un lēmumus par terapiju nedrīkst pieņemt, vadoties tikai pēc luminiscētās in situ hibridizācijas rezultātiem.

Neievērojot attiecīgo protokolu, var tikt ietekmēta veikspēja un iegūti kļūdaini pozitīvi vai kļūdaini negatīvi rezultāti.

Šis komplekts nav apstiprināts izmantošanai nolūkiem, kas neatbilst norādītajam paredzētajam lietojumam.

Paredzētais lietojums

Zonde CytoCell Del (20q) Deletion Probe ir kvalitatīvs, neautomatizēts luminiscētās in situ hibridizācijas (fluorescence in situ hybridisation — FISH) tests, kas paredzēts hromosomālo pārkātojumumu noteikšanai 20. hromosomas reģionos 20q12 un 20q13.1 Karnuā šķīdumā (3:1 metanols/etiķskābe) fiksetās hematoloģiskā iegurta šūnu suspensijās no pacientiem, kuriem ir konstatēta akūta mieloida leikēmija (AML) vai mielodisplastiskais sindroms (MDS) vai arī pastāv aizdomas par tā esamību.

Indikācijas

Šis produkts ir paredzēts kā citu klīnisko un histopatoloģisko testu papildinājums atzītās diagnostikas un klīniskās aprūpes metodēs, kad informācija par 20q delēcijas statusu ir svarīga klīniskajai pārvaldībai.

Testa principi

Luminiscētā in situ hibridizācija (Fluorescence in situ hybridisation — FISH) ir metode, kas ļauj noteikt DNS sekvences metafāzu hromosomās vai interfāzes kodolos fiksētiem citoģenētiskiem paraugiem. Šajā metodē tiek izmantotas DNS zondes, kas hibridizējas ar veselām hromosomām vai atsevišķām unikālām sekvencēm un kalpo kā efektīvs G joslu citoģenētiskās analīzes palīg līdzeklis. Šo metodi tagad var lietot kā būtisku izmeklēšanas instrumentu prenatalajā, hematoloģiskajā un solidu audzēju hromosomālajā analizē. Mērķa DNS pēc fiksācijas un denaturēšanas ir pieejama hibridizācijai ar līdzīgi denaturētu, luminiscējošu mērķu DNS zondi, kurai ir papildu sekvence. Pēc hibridizācijas nesaisītā un nespecifiski saistītā DNA zonde tiek aizvākta un DNS tiek kontrastēta vizualizācijai. Pēc tam, izmantojot luminiscences mikroskopiju, hibridizēto zondi var vizualizēt mērķa materiālā.

Informācija par zondi

20. hromosomas garā pleca delēcija ir bieži sastopamas hromosomālās anomālītātes, kas saistītas ar ļaundabīgiem mieloidā jaunveidojumiem, it īpaši mieloproliferatīvajām neoplazmām (MPN), mielodisplastiskajiem sindromiem (MDS) un akūtu mieloido leikēmiju (AML)¹.

20. hromosomas garā pleca delēcija [del(20q)] ir konstatējama 10% pacientu, kas cieš no īstās policitēmijas, kā arī citu MPN gadījumos². Kā arī tā ir konstatējama 4% MDS gadījumu un 1–2% AML gadījumu². MDS gadījumos, kad del(20q) ir vienīgā anomālītāte, iznākums ir prognozējams labs, bet sekundāru anomālītāšu klātbūtne var liecināt par slimības progresiju³.

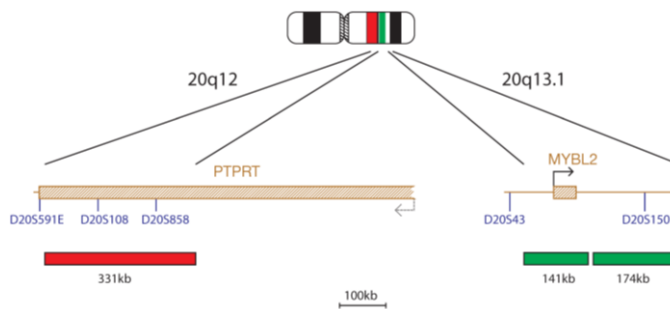
FISH ir īpaši noderīga anomālītātes esamības un pakāpes apstiprināšanai nepietiekamos citoģenētisko paraugu preparātos.

Potenciālie mērķa gēni ir pēti pārklāšanās reģionā starp AML/MDS un MPD kopējo deletēto reģionu, kas atrodas 20q12. Pieci gēni tika ekspresēti kaulu smadzeņu un CD34+ šūnās. Trīs no šiem gēniem bija iepriekš identificēti: L(3)MBTL1 regulē hromatīna struktūru mitozes laikā; SRSF6 kodē ar proteīnu ar augstu serīna saturu, kas ir svarīgs mRNS alternatīva spļaisinga regulēšanai; un MYBL2, kas ietilpst MYB transkripcijas faktoru saimē, ir iesaistīts šūnās cikla kontrolē^{2,4,5}.

Zondes specifikācija

20q12, sarkana

20q13.1, zaļa



20q12 zonde, marķēta sarkanā krāsā, nosedz PTPRT gēna reģionu 331 kb un ietver D20S108 marķieri. 20q13.1 zondes, marķētas zaļā krāsā (141 kb un 174 kb), nosedz MYBL2 gēnu un ietver D20S150 marķieri.

Nodrošinātie materiāli

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

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

Kontrasta krāsviela: 150 µl flakonā (15 testi)

Kontrasta krāsviela ir DAPI luminiscences uzturēšanas šķīdums (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, valkājiet cimdus.
3. Zondes maisījumos ietilpst formamīds, kas ir teratogēns, tādēļ nedrīkst pieļaut to izgarojumu ieeļpošanu un nonākšanu saskarē ar ādu. Rīkojieties ar to piesardzīgi; valkājiet cimdus un laboratorijas virsvalku.
4. DAPI ir potenciāli kancerogēna viela. Rīkojieties ar to piesardzīgi; valkājiet cimdus un laboratorijas virsvalku.
5. Atbrīvojieties no visām bīstamajām vielām atbilstoši jūsu iestādē spēkā esošajām vadlīnijām attiecībā uz bīstamu atkritumu utilizāciju.
6. Operatoriem jāspēj atšķirt sarkano, zilo un zaļo krāsu.
7. Neievērojot norādīto protokolu un norādījumus par reaģentiem, var tikt ietekmēta veikspēja un iegūti kļūdaini pozitīvi vai kļūdaini negatīvi rezultāti.
8. Zondi nedrīkst atšķaidīt vai veidot maisījumus ar citām zondēm.
9. Ja protokola priekšdenaturēšanas fāzes laikā netiek izmantoti 10 µl zondes, var tikt ietekmēta 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 beigai datumam, kas norādīts uz komplekta marķējuma. Zondes un kontrasta krāsvielas flakoni ir jāuzglabā tumšā.



Zonde paliek stabila normālas lietošanas gaitā, nekošajos sasaldēšanas/atkausēšanas ciklos (vienu ciklu veido zondes izņemšana no saldētavas un ievietošana atpakaļ saldētavā) un ir fotostabila līdz pat 48 stundām pēc nonākšanas pastāvīgā apgaismojumā. Ir jāveic viss iespējamais, lai ierobežotu gaismas un temperatūras svārstību ietekmi.

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

Ir jāizmanto kalibrēts aprīkojums.

1. Sildierīce (ar cietu sildvirsmu un precīzu temperatūras regulēšanu līdz pat 80 °C)
2. Kalibrētas dažāda tilpuma mikropipetes un uzgaļi 1–200 µl diapazonā.
3. Ūdens vanna ar precīzu temperatūras regulēšanu — 37 °C un 72 °C
4. Mikrocentrifūgas mēģenes (0,5 ml)
5. 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 mērīerīce (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 priekšmetstikliņi
14. 24x24 mm segstikliņi
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. Citoģenētiskā žāvēšanas kamera

Nepieciešamie reaģenti, kas nav ietverti komplektācijā

1. 20x citrāta fizioloģiskais šķīdums (sāļi-sodium citrate — SSC)
2. 100% etanols
3. Tween-20
4. 1M nātrija hidroksīds (NaOH)
5. 1M sāļsskābe (HCl)
6. Attīrīts ūdens

Uz luminiscences mikroskopu attiecināmie ieteikumi

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

Fluorofors	Ierosme _{maks.} [nm]	Izstarošana _{maks.} [nm]
Zaļš	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 sarkano fluoroforu vienlaicīgu vizualizāciju, izmantojiet trīsjoslu DAPI/zaļā spektra/sarkanā spektra filtru vai divjoslu zaļā spektra/sarkanā spektra filtru.

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

Paraugu sagatavošana

Šis komplekts ir paredzēts izmantošanai ar hematoloģiski iegūtām šūnu suspensijām, kas fiksētas Karnuā šķīdumā (3:1 metanols/etīlskābe) fiksatorā un ir sagatavotas atbilstoši laboratorijā vai iestādē spēkā esošajām vadlīnijām. Sagatavojiet gaisā nožāvētus paraugus uz mikroskopa priekšmetstikliņiem atbilstoši standarta citoģenētiskajām procedūrām. AGT *citoģenētikas laboratorijās rokasgrāmatā* ir ietverti ieteikumi par paraugu ņemšanu, kultūrēšanu, ievākšanu un priekšmetstikliņu sagatavošanu⁶.

Šķīdumu sagatavošana

Etanola šķīdumi

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

- 70% etanols — 7 daļas 100% etanola ar 3 daļām attīrīta ūdens
 - 85% etanols — 8,5 daļas 100% etanola ar 1,5 daļām attīrīta ūdens
- Glābāji šķīdumus līdz pat 6 mēnešiem istabas temperatūrā hermētiski noslēdzamā konteinerā.

2xSSC šķīdums

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

0.4xSSC šķīdums

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

2xSSC, 0,05% Tween-20 šķīdums

Atšķaidiet 1 daļu 20xSSC šķīduma ar 9 daļām attīrīta ūdens. Pievienojiet 5 µl Tween-20 uz 10 ml un rūpīgi samaisiet. Pārbaudiet pH līmeni un nodrošiniet, lai tā pH būtu 7,0, pēc nepieciešamības izmantojot NaOH vai HCl. Uzglabājiet šķīdumu līdz pat 4 mēnešu ilgumā istabas temperatūrā hermētiski noslēdzamā konteinerā.

Luminiscētās in situ hibridizācijas protokols

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

Priekšmetstikliņa sagatavošana

1. Novietojiet šūnu paraugu uz mikroskopa priekšmetstikliņa, kas izgatavots no stikla. Ļaujiet nožūt.
2. Iegremdējiet priekšmetstikliņu 2xSSC šķīdumā istabas temperatūrā uz 2 minūtēm, neveicot maisīšanu.
3. Veiciet dehidrēšanas etanolā sērijas (70%, 85% un 100%), katru 2 minūtes istabas temperatūrā.
4. Ļaujiet nožūt.

Priekšdenaturēšana

5. Izņemiet zondi no saldētavas un ļaujiet tai sasilt līdz istabas temperatūrai. Pirms mēģeņu lietošanas brīdī tās centrifugējiet.
6. Izmantojot pipeti, pārliecinieties, vai zondes šķīdums ir viendabīgi samaisīts.
7. Paņemiet 10 µl zondes šķīduma katram testam un pārnesiet to uz mikrocentrifūgas mēģeni. Atlikušo zondes šķīdumu nekavējoties ievietojiet atpakaļ saldētavā.
8. Novietojiet zondi un paraugu priekšmetstikliņu uz sildierīces un veiciet priekšsildīšanu 37 °C (+/- 1 °C) temperatūrā 5 minūtes.
9. Uzlieciet 10 µl zondes maisījuma uz šūnu parauga un rūpīgi uzlieciet segstikliņu. Hermetizējiet ar gumijas līmi un ļaujiet līmei pilnībā nožūt.

Denaturēšana

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

Hibridizācija

11. Ievietojiet priekšmetstikliņu 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 segstikliņu un rūpīgi notīriet visas līmes atliekas.
14. Iegremdējiet priekšmetstikliņu 0,4xSSC (pH 7,0) 72 °C (+/- 1 °C) temperatūrā uz 2 minūtēm nemaisot.
15. Noteciniet šķīdumu no priekšmetstikliņa un iegremdējiet to 2xSSC, 0,05% Tween-20 šķīdumā istabas temperatūrā (pH 7,0) uz 30 sekundēm nemaisot.
16. Noteciniet šķīdumu no priekšmetstikliņa un katram paraugam pievienojiet 10 µl DAPI luminiscences uzturēšanas līdzekli.
17. Uzlieciet segstikliņu, likvidējiet burbulus un ļaujiet krāsai tumsā atstāties 10 minūtes.
18. Skatiet luminiscences mikroskopā (sk. **Ieteikumi attiecībā uz luminiscences mikroskopu**).

Sagatavoto priekšmetstikliņu stabilitāte

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

Ieteikumi attiecībā uz procedūru

1. Priekšmetstikliņu karsēšana vai novecošana var samazināt signāla luminiscenci.
2. Tādu reaģentu izmantošana, kas nav uzņēmuma CytoCell Ltd. nodrošinātie vai ieteiktie reaģenti, var nelabvēlīgi ietekmēt hibridizācijas apstākļus.
3. Šķīdumu, ūdens vannu un inkubatoru temperatūras mērīšanai jāizmanto kalibrēts termometrs, jo norādītās temperatūras ievērošana ir kritiski svarīga produkta optimālas veikspējas nodrošināšanai.
4. Skalošanas šķīdumu koncentrācijas, pH vērtības un temperatūras vērtības ir svarīgas, jo pārāk lielas pielaišanas gadījumā iespējama nespecifiska sasaiste, savukārt pārāk mazas pielaišanas gadījumā iespējama signāla nepietiekamība.
5. Nepilnīga denaturēšana var izraisīt signāla nepietiekamību, savukārt pārmērīga denaturēšana arī var izraisīt nespecifisku sasaisti.
6. Pārmērīga hibridizācijas dēļ iespējami papildu vai neparedzēti signāli.
7. Pirms testa izmantošanas diagnostikas nolūkiem lietotajiem ir jāveic protokola optimizācija atbilstoši saviem paraugiem.
8. Ja apstākļi nav pietiekami optimāli, iespējama nespecifiska sasaiste, kas var tikt nepareizi interpretēta kā zondes signāls.

Rezultātu interpretēšana

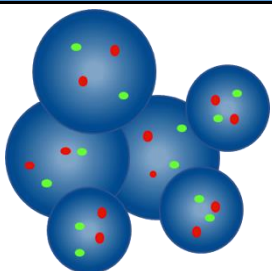
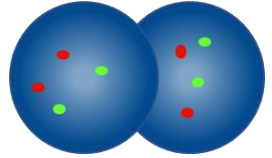
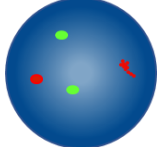
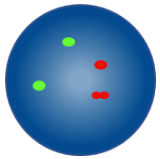
Sagatavotā priekšmetstikliņa ar paraugu kvalitātes novērtēšana

Paraugu nedrīkst analizēt tālāk norādītajos gadījumos.

- Signāli ir pārāk vāji analizēšanai atsevišķos filtros — lai veiktu analīzi, signāliem jābūt spilgtiem, labi izšķiramiem un viegli novērtējamiem.
- Ir daudz salīpušu/pārklājošu šūnu, kas traucē veikt analīzi.
- >50% šūnu nav hibridizētas.
- Starp šūnām atrodas pārāk daudz luminiscējošo daļiņu un/vai luminiscējošs aizmiglojums, kas rada signāla traucējumus, — optimāla priekšmetstikliņa ar paraugu fonam jābūt tumsam vai melnam un tīram.
- Šūnu kodolu robežas nav izšķiramas un nav veselas.

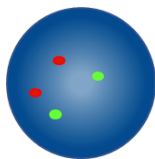
Uz analīzi attiecināmās vadlīnijas

- Katra parauga analīzi un interpretēšanu ir jāveic diviem laboratorijas speciālistiem. Visas neatbilstības ir jānovērš, novērtēšanu veicot trešajam laboratorijas speciālistam.
- Katram laboratorijas speciālistam jābūt atbilstīgi kvalificētam atbilstoši spēkā esošajiem valsts līmeņa standartiem.
- Katram laboratorijas speciālistam neatkarīgi jāveic novērtēšana 100 kodoliem no katra parauga. Pirmajam laboratorijas speciālistam jāsāk analīze no priekšmetstiklīņa kreisās puses, savukārt otram laboratorijas speciālistam — no priekšmetstiklīņa labās puses.
- Katram laboratorijas speciālistam jādokumentē savi rezultāti atsevišķās lapās.
- Ir jāanalizē tikai veselī kodoli, nevis pārklājošies kodoli, sablīvējušies kodoli vai kodoli, kurus sedz citoplazmatiskās atliekas vai augsta līmeņa autoluminiscence.
- Jāizvairās no zonām ar pārmērīgu citoplazmatisko atlieku apjomu vai nespecifisku hibridizāciju.
- Signāla intensitāte var būt mainīga, pat vienā kodolā. Šādos gadījumos izmantojiet atsevišķus filtrus un/vai pielāgojiet fokālo plakni.
- Ja apstākļi nav pietiekami optimāli, signāli var šķīst izkliedēti. Ja divi vienādas krāsas signāli savstarpēji saskaras vai attālums starp tiem nepārsniedz divus signāla platumus, vai arī abus signālus savieno tikko redzams pavediens, šie signāli ir uzskatāmi par vienu signālu.
- Ja pastāv šaubas, vai šūna ir analizējama, neveiciet tās analīzi.

Uz analīzi attiecināmās vadlīnijas	
	Neskaitīt — kodoli atrodas pārāk tuvu viens otram, lai varētu noteikt to robežas
	Neskaitīt pārklājošos kodolus — nav redzamas visas abu kodolu zonas
	Skaitīt kā divus sarkanus signālus un divus zaļus signālus — viens no abiem sarkanajiem signāliem ir difūzs
	Skaitīt kā divus sarkanus signālus un divus zaļus signālus — atstare vienā sarkanajā signālā ir mazāka nekā divi signāla platumi

Paredzamie rezultāti

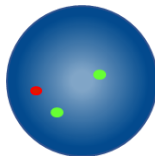
Paredzamais normālu signālu modelis



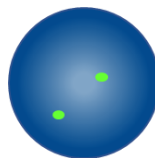
Normālā šūnā ir paredzami divi sarkani un divi zaļi signāli (2S, 2Z).

Paredzami anormālo signālu modeļi

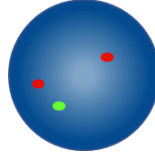
Deletētās šūnas var uzrādīt vienu no tālāk norādītajiem signālu modeļiem.



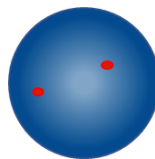
1. Ja delēcija ir intersticiāla un ietver joslu q12, bet ne q13.1, kā arī ir hemizigota, paredzamais signālu modelis ir viens sarkans un divi zaļi signāli (1S, 2Z).



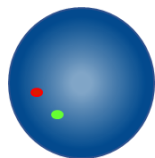
2. Ja delēcija ir intersticiāla un ietver joslu q12, bet ne q13.12, kā arī ir homozigota, paredzamais signālu modelis ir divi zaļi signāli, bez sarkaniem signāliem (0S, 2Z).



3. Ja delēcija ietver joslu q13.1, bet ne q12, kā arī ir hemizigota, paredzamais signālu modelis ir divi sarkani un viens zaļš signāls (2S, 1Z).



4. Ja delēcija ietver joslu q13.1, bet ne q12, kā arī ir homozigota, paredzamais signālu modelis ir divi sarkani signāli, bez zaļiem signāliem (2S, 0Z).



5. Viena sarkana un viena zaļa signāla modelis (1S, 1Z) ir novērojams 20. hromosomas monosomijas vai abu joslu hemizigotas delēcijas 20q gadījumā.

Citi signālu modeļi ir iespējami aneiploīdos/nelīdzsvarotos paraugos.

Zināmā krusteniskā reakcija

Nav zināmu krustenisko reakciju.

Ziņošana par nevēlamiem notikumiem

Ja uzskatāt, ka ir radušies šīs ierīces darbības traucējumi vai tās veikta pējas rādītāji ir pasliktinājušies, iespējami izraisot nelabvēlīgu notikumu (piemēram, novēlotu vai nepareizu diagnozi, 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. Kontaktpersonu medicīnas ierīču kontroles jautājumos saraksts ir atrodams šajā vietnē: <http://ec.europa.eu/growth/sectors/medical-devices/contacts/>.

Specifiskās veiktspējas raksturlielumi

Anālītiskais specifiskums

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

1. tabula Zondes Del (20q) Deletion Probe analītiskais specifiskums

Zonde	Mērķa lokuss	Ar pareizo lokusu hibridizēto signālu skaits	Hibridizēto signālu kopskaits	Specifiskums (%)
Sarkans 20q12	20q12	200	200	100
Zaļš 20q13.12	20q13.12	200	200	100

Anālītiskais jutīgums

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

2. tabula Zondes Del (20q) Deletion Probe analītiskais jutīgums

Šūnu ar paredzamiem signālu modeļiem skaits	Šūnu ar novērtējamiem signāliem skaits	Jutīgums (%)	95% ticamības intervāls
4924	5000	98,48	98,10–98,78

Normalitātes robežvērtību raksturojums

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

Normalitātes robežvērtība tika noteikta, izmantojot paraugus, kuri ir negatīvi attiecībā uz pārkārtojumu, kura noteikšanai ir paredzēta šī zonde, un beta inversijas funkciju. Katram paraugam tika reģistrēti 100 interfāzes kodolu signālu modeļi, kuru reģistrēšanu veica divi neatkarīgi laboratorijas speciālisti, kopumā reģistrējot 200 signālu modeļus katram paraugam.

3. tabula Zondes Del (20q) Deletion Probe normalitātes robežvērtību raksturojums

Anomālu signālu modelis	Robežvērtības generēšanai analizēto paraugu skaits	Novērtēto kodolu skaits katrā paraugā	Maksimālais kļūdaini pozitīvo signālu modeļu skaits	Normalitātes robežvērtība (%)
1S, 2Z	1300	200	4	4,4
2S, 1Z	1300	200	4	4,4
1S, 1Z	1300	200	6	5,7

Laboratorijām jāveic robežvērtību verifikācija, izmantojot savus datus^{7,8}.

Reproducējamība

Reproducējamība tika noteikta trīs atsevišķās laboratorijās, kurās tika testēti seši kodēti paraugi (divi negatīvi attiecībā uz pārkārtojumu, divi zemas pakāpes pozitīvi paraugi, kas 1–3 reizes pārsniedza robežvērtību, un divi augsta līmeņa pozitīvi paraugi, kuros vairāk nekā 45% šūnu bija pozitīvas attiecībā uz pārkārtojumu). Analīze tika veikta, izmantojot divus katra parauga replikātus piecu nesešņu dienu laikā.

Visās trīs norises vietās tika veikta testēšana dienas, starpdienu un starplaboratoriju režīmā, izmantojot vienu zonu partiju, kā arī vienā no norises vietām tika testēta stappartiju reproducējamība, izmantojot trīs atšķirīgas zonu partijas.

Reproducējamība tika aprēķināta, izmantojot katra testa ietvaros pēlto mainīgo lielumu konverģenci.

4. tabula Zondes Del (20q) Deletion Probe reproducējamība

Reproducējamības izpēte	Paraugi	Konverģence (%)
Dienā/starpdienu/starplaboratoriju	Negatīva	100
	Augsta līmeņa pozitīva	100
Starppartiju	Negatīva	92
	Augsta līmeņa pozitīva	100

Klīniskā veiktspēja

Klīniskā veiktspēja tika noteikta, izmantojot reprezentatīvu neatlasītu pacientu kopu, kas tika nosūtīti uz vienu no divām izpētes norises vietām attiecībā uz AML vai MDS (vienā norises vietā tika apkopoti 100 paraugi, savukārt otrā norises vietā — 742 paraugi). Ar zondi noteikto pārkārtojumu incidentu daudzumi tika salīdzināti ar datiem, kas iegūti no literatūras avotiem.

Lai veiktu šo salīdzinājumu, literatūrā norādītais ticamības intervāls attiecībā uz populāciju 100 paraugu apmērā tika aprēķināts, aprēķinot 1 – paraugu proporciju testu ar kontinuitātes korekciju.

5. tabula Zondes Del (20q) Deletion Probe klīniskā veiktspēja

Pārkārtojums	Izplatība				
	Literatūras apskats (%)	95% LCI (%)	1. norises vieta (%)	2. norises vieta (%)	95% UCL (%)
AML ar 20q zudumu/pārkārtojumu	1,0	0,1	5	1,21	6,2
MDS ar 20q zudumu/pārkārtojumu	1,7	0,2			7,3

Papildinformācija

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

Tālr.: +44 (0)1223 294048

E-pasts: techsupport@cytozell.com

Timeklī: www.ogt.com

Atsauces

1. Bržinová *et al.*, 2005;160(2):188-192
2. Bench *et al.*, *Oncogene* 2000;19(34):3902-13
3. Liu *et al.*, *Cancer Genet Cytogenet.* 2006 Nov;171(1):9-16
4. Li J *et al.*, *PNAS* 2004;101:7341-6
5. Wang *et al.*, *Genomics* 1999;59:275-81
6. Arsham, MS., Barch, MJ. and Lawce HJ. (eds.) (2017) *The AGT Cytogenetics Laboratory Manual*. New Jersey: John Wiley & Sons Inc.
7. 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.
8. Wiktor AE, Dyke DLV, Stupca PJ, Ketterling RP, Thorland EC, Shearer BM, Fink SR, Stockero KJ, Majorowicz JR, Dewald GW. *Preclinical validation of fluorescence in situ hybridization assays for clinical practice.* *Genetics in Medicine.* 2006;8(1):16–23.

Simbolu skaidrojums

REF	Iv: Kataloga numurs
IVD	Iv: <i>In vitro</i> diagnostikai paredzēta medicīnas ierīce
LOT	Iv: Partijas kods
	Iv: Skatīt lietošanas instrukciju
	Iv: Ražotājs
	Iv: Derīguma termiņš
	Iv: Temperatūras ierobežojums
	Iv: Sargāt no saules gaismas
	Iv: Saturs ir pietiekams <n> testiem
CONT	Iv: Saturs

Patenti un preču zīmes

CytoCell ir SIA Cytozell reģistrēta preču zīme.



CytoCell Ltd.

Oxford Gene Technology,
418 Cambridge Science Park,
Milton Road,
Cambridge, CB4 0PZ, AK.
Tālr.: +44(0)1223 294048
Fakss: +44(0)1223 294986
E-pasts: probes@cytozell.com
Timeklī: www.ogt.com