



A Sysmex Group Company



## Kasutusjuhend

REF: LPH 025-S / LPH025

### Sond Del (7q) Deletion Probe



AINULT ERIALASEKS KASUTAMISEKS



www.cytoCELL.com

Lisateave ja muud keeled on saadaval aadressil [www.ogt.com](http://www.ogt.com)

#### Piirangud

Seade on loodud tuvastama genoomilisi kadusid, mis on suuremad kui sondikomplekti punase ja rohelse kloni kaetud piirkond, mis sisaldab piirkondi 7q22 ja 7q31.2. Piirkonnast välja poole jäävaid genoomilisi kadusid või piirkonna osalisi kadusid ei pruugita selle tootega tuvastada.

See analüüs pole ette nähtud kasutamiseks iseseisva diagnostilise vahendina, prenataalseks analüüsiks, populatsioonipõhiseks skriininguks, patsiendilähedaseks analüüsiks või iseenalal analüüsiks. 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 proovituüpide ega haigustüüpide korral, kui ainult nende, mis on kasutusotstarbes täpsustatud.

FISH-i tulemuste tõlgendamine ja teavitamine peab vastama erialaste 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 Del (7q) Deletion Probe on kvalitatiivne, mitteautomaatne, fluorestsents *in situ* hübriidatsiooni (FISH) uuring, mida kasutatakse 7. kromosoomi 7q22 ja 7q31.2 piirkonna kromosomaalsete deletsioonide tuvastamiseks Carnoy lahuses (3:1 metanool/atseetaap) fikseeritud hematoloogiliselt tuletatud rakususpensioonides, mis pärinevad kinnitatud või kahtlustatud ägeda müeloidse leukeemia (AML) või müelodüsplastilise sündroomiga (MDS) patsientidelt.

#### Näidustused

See toode on loodud täiendusena teistele kliinilistele ja histopatoloogilistele uuringutele tunnustatud diagnostilistes ja kliinilistes raviteedes, kus teadmised 7q deletsiooni oleku kohta on kliinilise ravi seisukohalt olulised.

#### Analüüsi põhimõte

Fluorestsents *in situ* hübriidatsiooni (FISH) on meetod DNA järjestuste tuvastamiseks metafasi kromosoomides või fikseeritud tsütogeneetiliste proovide interfaasi tuumades. Meetod kasutab DNA sonde, mis hübriidseeritakse 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 hübriidseerimist eemaldatakse seondumata ja ebaspetsiifiliselt seotud DNA sond ning DNA visualiseeritakse vastandvärvimisega. Seejärel võimaldab fluorestsentsmikroskoopia hübriidseeritud sondi visualiseerimist sihtmärkmaterjalil.

#### Sondi teave

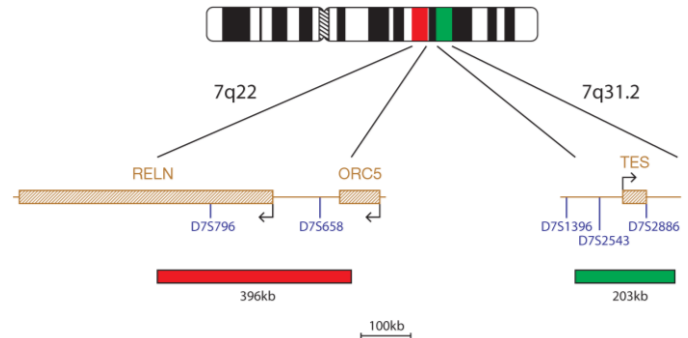
7. kromosoomi monosoomia ja 7. kromosoomi pika öla deletsioonid on tuntud rekurrentsed kromosomaalsed aberratsioonid, mida esineb sageli müeloidsete häiretega.

7. monosoomiat ja del(7q) esineb paljude müeloidsete häiretega, sealhulgas müelodüsplastiline sündroom (MDS), äge müeloidne leukeemia (AML) ja juveniline müelomonotsütaarne leukeemia (JMML)<sup>1</sup>. Lisaks esineb seda MDS-i ja AML-ga, mis tekib konstitutsionaalsete häiretega (nt Fanconi aneemia, Kostmanni sündroom, neurofibromatoosi 1. tüüp ja perekondlik 7. monosoomia) patsientidel<sup>2</sup>. 7. monosoomia või del(7q) esinemist karüpootüüpsete muutustega seostatakse müeloidsete pahaloomuliste protsesside negatiivsema tulemiga<sup>1,3</sup>.

7. kromosoomi deletsioonid on müeloidsete haiguste puhul murdepunktidest tavaliselt suurel määral heterogeensed, mis muudab ühiste kustutatud piirkondade (CDR-d) kaardistamise keeruliseks. On tõenäoline, et 7. kromosoomi mitmed tuumorsuppressorgeenid töötavad leukemogeneesis koos<sup>4</sup>. Varem on leitud kaks CDR-i: üks asukohas 7q22 ja teine 7q31–q36<sup>2,5</sup>, mis on mõlemad selle sondikomplekti sihtmärgid.

#### Sondi spetsifikatsioon

7q22.1-q22.2, punane  
7q31.2, roheline



Punasega märgistatud 7q22 sond hõlmab 396 kb piirkonda, mis sisaldab RELN geeni telomeerset otsa, ja ulatub üle markeri D7S658. Rohelisega märgistatud 7q31 sond hõlmab 203 kb piirkonda, mis sisaldab TES geeni.

#### Tarnitavad materjalid

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

#### Vastandvärv

150 µl vialiki 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 laborikitlit.
4. DAPI on potentsiaalne kartsinogeen. Käsitsege ettevaatlikult; kasutage kindaid ja laborikitlit.
5. Vabaneege kõigist ohtlikest jäätmetest oma asutuse ohtlike jäätmete käitlemise 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 10µl kasutamata jätmine protokoll denatureerimiseelses 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 vialide tuleb säilitada pimedas.



Sond säilib stabiilsuse normaalse kasutamise ajal esinevate sulatamise ja külmutamise tsüklite kestel (kus üks tsüklil kestab sondi eemaldamisest külmutusest 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. Mikrotsentrifugaal katsutid (0,5 ml)
5. Fluorestsentsmikroskoop (vt fluorestsentsmikroskoobi soovitusete lõiku)
6. Faasikontrastmikroskoop

DS062/CE-et v010.00/2020-12-01 (H018 v6)

Lk 1/4

- Läbipaistvast plastist, keraamilised või kuumakindlast klaasist Coplin anumad
- Pintsetid
- Kalibreeritud pH-meeter (või pH indikaatorribad vahemikus pH 6,5–8,0)
- Niiskuskamber
- Fluorestsentsmikroskoobi immersioonõli
- Tsentrifuug
- Mikroskoobi alusklaasid
- 24x24 mm katteklasisid
- Taimer
- 37 °C inkubaator
- Katteklaasi liim
- Vortex-segisti
- Gradueeritud silindrid
- Magnetsegisti
- Kalibreeritud termomeeter

#### Valikulised seadmed, mida ei tarnita

- Tsütogeneetiline kuivatuskamber

#### Vajalikud reaktiivid, mida ei tarnita

- 20-kordne naatriumsitraadi soolalahus (SSC)
- 100%-line etanool
- Tween-20
- 1M naatriumhüdroksiid (NaOH)
- 1M vesinikkloriid (HCl)
- Destilleeritud vesi

#### Fluorestsentsmikroskoobi soovitus

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

Fluorofoor	Eksitatsioon <sub>max</sub> [nm]	Emissioon <sub>max</sub> [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 tööaja ja filtrite vanuse kohta.

#### Proovi ettevalmistamine

Komplekt on loodud kasutamiseks hematoloogilisel tuletatud rakuspensioonidega, mis on fikseeritud Carnoy lahuses (3:1 metanool/atsethape) 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 kohta.

#### 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 vastandvärvi kokkupuude labori valgustusega oleks kogu aeg piiratud).

#### Slaidi ettevalmistamine

- 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 tömbekappi).
- Kastke slaidid toatemperatuuril 2 minutiks 2-kordsesse SSC lahusesse ilma segamata.
- Dehüdrateerige etanoolilahuste seerias (70%, 85% ja 100%), igas 2 minutit toatemperatuuril.
- Laske kuivada.

#### Enne denaturatsiooni

- Eemaldage sond külmikust ja laske sel soojeneda toatemperatuurile. Tsentrifugeerige katsuteid lühidalt enne kasutamist.
- Veenduge, et sondi lahus on ühtlaselt segunenud, kasutades pipetti.
- Eemaldage 10 µl sondi analüüsi kohta ja viige see mikrosentrifuugi katsutisse üle. Tagastage ülejäänud sond kiiresti külmikusse.
- Asetage sond ja proovislaid 5 minutiks kuumutusplaadile eelsoojenema temperatuurile 37 °C (+/- 1 °C).
- Tilgutage 10 µl sondisegu rakuproovile ja asetage ettevaatlikult katteklasi. Lisage katteklasi liim ja laske liimil täielikult kuivada.

#### Denaturatsioon

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

#### Hübriidsatsioon

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

#### Hübriidsatsioonijärgsed pesud

- Eemaldage DAPI külmikust ja laske soojeneda toatemperatuurile.
- Eemaldage ettevaatlikult katteklasisid ja kõik liimijääd.
- Kastke slaidid 2 minutiks ilma segamata 0,4-kordsesse SSC lahusesse (pH 7,0) temperatuuril 72 °C (+/- 1 °C).
- Kuivatage slaid ja kastke see 30 sekundiks ilma segamata 2-kordsesse SSC lahusesse, 0,05% Tween-20 lahusesse, toatemperatuuril (pH 7,0).
- Kuivatage slaid ja lisage igale proovile 10 µl pleekimisvastast DAPI-d.
- Katke katteklasisiga, eemaldage mullid ja laske värvil pimedas kujuneda 10 minutit.
- Vaadake fluorestsentsmikroskoobiga. (Vt **Fluorestsentsmikroskoobi soovitus**.)

#### Valmis slaidide stabiilsus

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

#### Protseduuri soovitus

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

#### Tulemuste tõlgendamine

##### Slaidi kvaliteedi hindamine

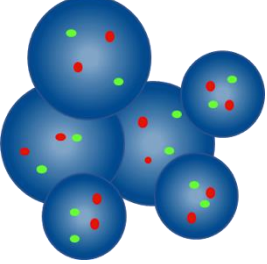
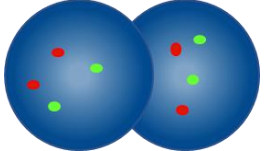
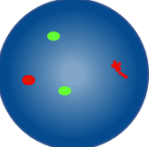
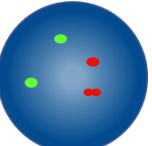
Slaidi ei tohiks analüüsida, kui

- signaalid on ühe filtriga analüüsimiseks liiga nõrgad – analüüsi jätkamiseks peaksid signaalid olema eredad, selged ja lihtsalt hinnatavad;
- liiga palju kokkuleppunud/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

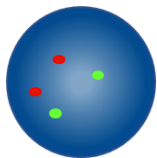
- Igat proovi peaks analüüsima ja tõlgendama kaks analüütikut. Kõik lahknused tuleks lahendada kordamata analüütiku hinnanguga
- Analüütikud peaksid olema riiklikult tunnustatud standardite kohase väljaõppega.
- Iga analüütik peaks hindama eraldi 100 tuuma iga proovi kohta. Esimene analüütik peaks alustama slaidi vasakult küljelt ja teine analüütik paremat küljelt.

- Iga analüütik peaks oma tulemused üles märkima eraldi andmekandjale.
- Analüüsige vaid terviklikke tuumi, mitte kattuvaid või kokkuleepunud või tsütoplasma jääkidega kaetud ega autofluorestseerivaid tuumi.
- Vältige alasid, kus esineb liigseid tsütoplasma jääke või ebaspetsiifilist hübriidseerimist.
- 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 rohelse signaalina, kui üks kahest punasest signaalist on difuusne
	Lugeda kahe punase signaalina ja kahe rohelse signaalina, kui ühe punase signaali tühimik on kahest signaalipikkusest väiksem

#### Eeldatavad tulemused

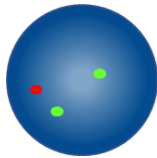
##### Eeldatav normaalne signaalimuster



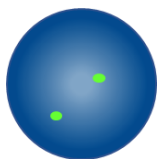
Normaalse raku eeldatav tulemus on kaks punast ja kaks rohelist signaali (2P, 2R).

##### Eeldatavad ebanormalsed signaalimustrid

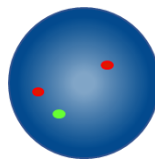
Kustutatud rakud võivad näidata ühte signaalimustrit järgmistest:



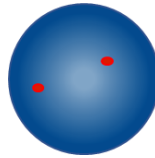
1. Kui deletsioon hõlmab ainult proksimaalset CDR-i ja on hemisügootne, on eeldatav signaalimuster üks punane ja kaks rohelist signaali (1P, 2R).



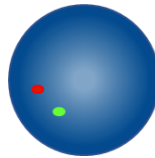
2. Kui deletsioon hõlmab ainult proksimaalset CDR-i ja on homosügootne, on eeldatav signaalimuster puuduv punane ja kaks rohelist signaali (0P, 2R).



3. Kui deletsioon hõlmab ainult distaalset CDR-i ja on hemisügootne, on eeldatav signaalimuster kaks punast ja üks roheline signaal (2P, 1R).



4. Kui deletsioon hõlmab ainult distaalset CDR-i ja on homosügootne, on eeldatav signaalimuster kaks punast ja puuduv roheline signaal (2P, 0R).



5. 7. monosoomia või 7q mõlema CDR-i hemisügootse deletsiooni korral võib näha ühte punast ja ühte rohelist signaalimustrit (1P, 1R).

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 hilinevad või valediagnoos, hilinevad või ebasobiv ravi), tuleb sellest tootjat kohe teavitada (**email**: [vigilance@ogt.com](mailto: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 toimivusarakteristikud

##### Analüütiline spetsiifilisus

Analüütiline spetsiifilisus on vaid õige lookusega hübriidseeritud signaalide protsentarv. Analüütiline spetsiifilisus saavutati kokku 200 sihtmärk-lockuse analüüsimisel. Analüütiline spetsiifilisus arvutati, jagades õige lookusega hübriidseeritud FISH-i signaalide arvu kogu hübriidseeritud FISH-i signaali arvuga.

Tabel 1. Sondidel Del (7q) Deletion Probe analüütiline spetsiifilisus

Sond	Sihtmärklookus	Oige lookusega hübriidseeritud signaalide arv	Hübriidseeritud signaalide koguarv	Spetsiifilisus (%)
Punane 7q22	7q22.1	200	200	100
Roheline 7q31	7q31.2	200	200	100

##### Analüütiline tundlikkus

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

Tabel 2. Sondidel Del (7q) Deletion Probe analüütiline tundlikkus

Eeldatava signaalimustriga rakkude arv	Hinnatava signaaliga rakkude arv	Tundlikkus (%)	95% usaldusvahemik
4945	5000	98,90	98,57—99,15

##### 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 Del (7q) Deletion Probe normaalse väljaarvamise piirväärtuste kirjeldus

Ebanormaalne signaalimuster	Väljaarvamise piirväärtuse loomiseks analüüsitud proovide arv	Proovi kohta hinnatud tuumade arv	Max valepositiivsete signaalimustrite arv	Normaalne väljaarvamise piirväärtus (%)
1R, 2G	1300	200	2	3,1
2R, 1G	1300	200	8	6,8
1R, 1G	1300	200	9	7,4

Laborid peavad oma andmete põhjal väljaarvamise piiri kinnitama<sup>7,8</sup>.

#### Reprodutseeritavus

Reprodutseeritavus tehti kindlaks kolme eraldi labori poolt, kes testisid kuut pimedat proovi (kaks ümberpaigutamise suhtes negatiivset, kaks nõrgalt positiivset proovi, mis ületasid piirväärtust 1–3 korda, ja kaks tugevalt positiivset proovi, mis sisaldasid üle 45% ümberpaigutamise suhtes positiivseid rakke). Analüüs viidi läbi iga proovist kahe replikaadiga veel järjestikusel päeval.

Kõik kolm asutust viisid läbi päevasisese, päevadevahelise ja asutusevahelise testimise, kasutades ühte ja sama sondi partiid, samas kui üks asutus teostas ka partiidevahelise reprodutseeritavuse testimise, kasutades kolme erinevat sondi partiid.

Reprodutseeritavus arutati, kasutades katse ajal uuritud muutujate vahelist ühilduvust.

Tabel 4. Sondi Del (7q) Deletion Probe reprodutseeritavus ja täpsus

Reprodutseeritavuse uuring	Proov	Ühilduvus (%)
Päevasisene/päevadevaheline/asutustevaheline	Negatiivne	100
	Tugevalt positiivne	100
Partiidevaheline	Negatiivne	100
	Tugevalt positiivne	100

#### Kliiniline toimivus

Kliiniline toimivus määrati, kasutades AML-i või MDS-i tõttu kahte erinevasse asutusse suunatud esindusliku valimata patsientide komplekti (100 proovi koguti esimesest asutusest ja 746 proovi koguti teisest asutusest). Sondiga tuvastatud ümberkorralduste esinemismäärasid võrreldi kirjandusallikate ülevaatest kogutud andmetega.

Selle võrdluse võimaldamiseks arutati kirjanduses esitatud usaldusvahemik 100 proovi populatsiooni suuruse kohta, arvatades 1–proovi proportsioonide testi koos jätkuva korrigeerimisega.

Tabel 5. Sondi Del (7q) Deletion Probe kliiniline toimivus

Ümberkorraldus	Levimus				
	Kirjanduse ülevaade (%)	95% LCI (%)	Asutus 1 (%)	Asutus 2 (%)	95% UCI (%)
AML koos 7q kao/ümberkorraldusega	5,7	2,5	4	7,1	12,7
MDS koos 7q kao/ümberkorraldusega	3,6	1,1			10,0

#### Lisateave

Lisateavet saate kontakteerudes ettevõtte CytoCell tehnilise toe osakonnaga.

Tel: +44 (0)1223 294048



E-mail: techsupport@cytoCell.com

W: www.ogt.com

#### Viited

- Jerez *et al.*, Blood 2012;119(25):6109-6118
- Fisher *et al.*, Blood 1997;89(6):2036-2041
- Trobaugh-Lotrario *et al.*, Bone Marrow Transplantation 2005;35(2):143-149
- McNerney *et al.*, Blood 2013;121(6):975-983
- Thoennissen *et al.*, American J Haem 2011;86(8):699-701
- 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, Ketteling 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