



A Sysmex Group Company



Kasutusjuhend

REF: LPH 024-S / LPH 024

Sond Del (5q) Deletion Probe



AINULT ERIALASEKS KASUTAMISEKS



www.cytocell.com

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

Piirangud

Seade on loodud tuvastama genoomilisi kadusid, mis on suuremad kui sondikomplekti punase kloni kaetud piirkond, mis sisaldab piirkonda 5q31.2. Piirkonnast väljapoole 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 erialastele kutsesstandarditele 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.

Protokolli 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 (5q) Deletion Probe on kvalitatiivne, mitteautomaatne, fluorestsents *in situ* hübridisatsiooni (FISH) uuring, mida kasutatakse 5. kromosoomi 5q31.2 piirkonna kromosomaalsete deletsioonide tuvastamiseks Carnoy lahuses (3:1 metanool/atseetahape) fikseeritud hematoloogilist tuletatud rakuspensioonides, 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 5q31.2 deletsiooni 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 tsütogeneetiliste analüüsides 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

5. kromosoomi pika õla deletsioonid on sageli esinevad karüotüüpilised kõrvalekalded, mida seostatakse müelodüsplaasiaga seotud muutustega

müelodüsplastilise sündroomi (MDS) ja ägeda müeloidse leukeemia (AML) puhul^{1,2}.

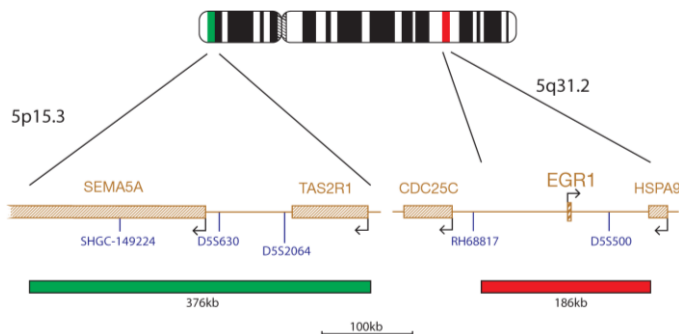
Ainukese tsütogeneetilise kõrvalekalde del(5q)-ga patsientide alamrühmal on sarnased kliinilised omadused, mis nimetatakse 5q-sündroomiks¹. <5% blastidega kliinisel üksusel on parem prognoos ja see vastab lenalidomidi ravile. Teiste tsütogeneetiliste kõrvalekallete või blastide liiaga patsientide, kellel on del(5q), ellumus on aga halvem^{2,3}.

MDS-i korral on kromosoomis 5q kaardistatud kaks kromosomaalset piirkonda. Ühte sagedast kustutatud piirkonda asukohas 5q33 seostatakse 5q-sündroomiga. Veel ühte proksimaalsemat piirkonda asukohas 5q31 on seostatud MDS-i ja AML-i agressiivsema vormiga ja sellega kaasnevad sageli täiendavad tsütogeneetilised kõrvalekalded ja halvem prognoos^{1,3, 4}.

Sond CytoCell del(5q) tuvastab EGR1 (*varajane kasvuvastus 1*), mis on tuumorsupressor geen asukohas 5q31. On näidatud, et EGR1 toimib läbi haplopuudulikkuse, et käivitada MDS-i/AML-i arenemine⁵.

Sondi spetsifikatsioon

EGR1, 5q31.2, punane
5p15.3, roheline



Punasega märgistatud EGR1 sond hõlmab 186 kb piirkonda asukohas 5q31.2 ja sisaldab markerit D5S500. Sondi segu sisaldab ka rohelisega märgistatud 5. kromosoomi asukoha 5p15.3 kontrollsondi, mis sisaldab markerit D5S630.

Tarnitavad materjalid

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

Sondid tarnitakse hübridiseerimislahusega eelsegatuna (formamid, dekstraansulfaat; naatriumtsitraadi soolalahus (saline-sodium citrate, SSC)) ja on valmis kasutamiseks.

Vastandvärv 150 µl vialis kohta (15 analüüsi)

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

Hoiatused ja ettevaatusabinõud

1. *In vitro* diagnostiliseks kasutamiseks. Ainult erialaseks kasutamiseks.
2. DNA sonde ja DAPI vastandvärvi käsitlemisel kandke kindaid.
3. Sondi segud sisaldavad formamidi, mis on teratogeenne; ärge hingake sisse auru ning vältige kontakti nahaga. Käsitsege ettevaatlikult; kasutage kindaid ja laborikiti.
4. DAPI on potentsiaalne kartsinogeen. Käsitsege ettevaatlikult; kasutage kindaid ja laborikiti.
5. Vabaneege kõigist jäätmetest oma asutuse ohtlike jäätmete käitlemise eeskirjade kohaselt.
6. Kasutajad peavad olema suutelised eristama punast, sinist ja rohelist värvi.
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 denatureerimise etapis võib mõjutada analüüsi toimivust ja põhjustada valepositiivseid/valenegatiivseid tulemusi.

Säilitamine ja käsitlemine

Komplekti tuleks säilitada külmutatuna temperatuurivahemikus -25...-15 °C kuni kehtivusaja lõpuni, mis on esitatud toote etiketil. Sondi ja vastandvärvi vialid tuleb säilitada pimedas.



Sond säilitab stabiilsuse normaalse kasutamise ajal esinevate sulatamise ja külmutamise tsüklite kestel (kus üks tsüklil kestab sondi eemaldamisest külmikust kuni sinna tagasipanekuni) ja on fotostabiilne kuni 48 tundi peale pideva valgusega kokkupuudet. Piirake iga hinna eest kokkupuudet valgusega ja temperatuurimuutustega.

Seadmed ja materjalid mis on vajalikud, kuid mida ei tarnita

Kasutada tuleb kalibreeritud seadmeid.

1. Kuumutusplaat (täisplaadi ja täpse temperatuuriregulaatoriga kuni 80 °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 soovitusi lõiku)
6. Faasikontrastmikroskoop
7. Läbipaistvast plastist, keraamilised või kuumakindlast klaasist Coplini anumad

DS061/CE-et v010.00/2020-12-01 (H017 v7)

Lk 1/4

- 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. 24×24 mm katteklasisid
- 15. Taimer
- 16. 37 °C inkubaator
- 17. Katteklasi liim
- 18. Vortex-segisti
- 19. Gradueeritud silindrid
- 20. Magnetsegisti
- 21. Kalibreeritud termomeeter

Valikulised seadmed, mida ei tarnita

- 1. Tsütogeneetiline kuivatuskamber

Vajalikud reaktiivid, mida ei tarnita

- 1. 20-kordne naatriumsitraadi soolalahus (SSC)
- 2. 100%-line etanool
- 3. Tween-20
- 4. 1M naatriumhüdroksiid (NaOH)
- 5. 1M vesinikkloriid (HCl)
- 6. Destilleeritud vesi

Fluorestsentsmikroskoobi soovitus

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

Fluorofoor	Eksitatsioon _{max} [nm]	Emissioon _{max} [nm]
Roheline	495	521
Punane	596	615

Veenduge, et asjakohased eksitatsiooni- ja emissioonifiltrid, mis hõlmavad eespool esitatud lainepikkusi, on mikroskoopi paigaldatud. Kasutage kolme spektri läbilaskevõimega DAPI/roheline spektri/punase spektri filtrit või kahe spektri läbilaskevõimega roheline spektri/punase spektri filtrit roheline ja punase fluorofoori samaaegseks 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/atseetahape) ja ette valmistatud vastavalt labori või asutuse eeskirjadele. Valmistage ette õhu käes kuivatatud mikroskoobi alusklasisid vastavalt tsütogeneetika standardprotseduuridele. AGT *Tsütogeneetika laborijuhend* sisaldab soovitusi proovi kogumise, kultuuri istutamise, kogumise ja slaidi tegemise kohta⁶.

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 lahuse

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

0,4 x SSC lahuse

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

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

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

FISH-i protokoll

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

Slaidi ettevalmistamine

- 1. Tilgutage rakuproov mikroskoobi klaasist 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. Kastke slaidid toatemperatuuril 2 minutiks 2-kordsesse SSC lahusesse ilma segamata.
- 3. Dehüdrateerige etanoolilahuste seerias (70%, 85% ja 100%), igas 2 minutit toatemperatuuril.
- 4. Laske kuivada.

Enne denaturatsiooni

- 5. Eemaldage sond külmikust ja laske sel soojustada toatemperatuurile. Tsentrifugeerige katsuteid lühidalt enne kasutamist.
- 6. Veenduge, et sondi lahus on ühtlaselt segunenud, kasutades pipetti.
- 7. Eemaldage 10 µl sondi analüüsi kohta ja viige see mikrotsentrifuug katsutisse üle. Tagastage ülejäänud sond kiiresti külmikusse.
- 8. Asetage sond ja proovislaid 5 minutiks kuumutusplaadile eelsoojenema temperatuurile 37 °C (+/-1 °C).
- 9. Tilgutage 10 µl sondisegu rakuproovile ja asetage ettevaatlikult katteklasis. 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.

Hübriidsatsioon

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

Hübriidsatsioonijärgsed pesud

- 12. Eemaldage DAPI külmikust ja laske soojustada toatemperatuurile.
- 13. Eemaldage ettevaatlikult katteklasisid ja kõik liimijääd.
- 14. Kastke slaidid 2 minutiks ilma segamata 0,4-kordsesse SSC lahusesse (pH 7,0) temperatuuril 72 °C (+/-1 °C).
- 15. Kuivatage slaid ja kastke see 30 sekundiks ilma segamata 2-kordsesse SSC lahusesse, 0,05% Tween-20 lahusesse, toatemperatuuril (pH 7,0).
- 16. Kuivatage slaid ja lisage igale proovile 10 µl pleekimisvastast DAPI-d.
- 17. Katke katteklasisiga, eemaldage mullid ja laske värvil pimedas kujuneda 10 minutit.
- 18. 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

- 1. Slaidide keetmine või aegumine võib fluorestsentssignaali nõrgendada.
- 2. Cytocell Ltd poolt toodetud või soovitatud reaktiivide asemel muude reaktiivide kasutamine võib ebasoodsalt mõjutada hübriidseerimistingimusi
- 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 vähenerangus võib põhjustada sondi ebaspetsiifilist sidumist ja liiga suur rangus võib põhjustada signaali puudumist
- 5. Mittetäielik denatureerimine võib põhjustada signaali puudumist ja üleliigne denatureerimine võib samuti põhjustada ebaspetsiifilist seondumist
- 6. Üleliigne hübriidseerimine võib põhjustada täiendavaid või ootamatuid signaale
- 7. Kasutajad peaksid enne analüüsi kasutamist diagnostilisel eesmärgil protokoll oma proovidega optimeerima
- 8. Suboptimaalsed tingimused võivad põhjustada ebaspetsiifilist seondumist, mida võidakse ekslikult sondi signaalina tõlgendada

Tulemuste tõlgendamine

Slaidi kvaliteedi hindamine

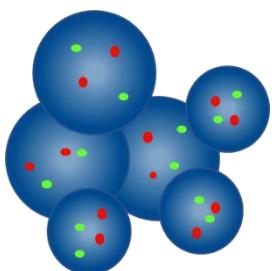
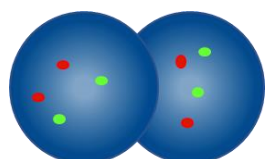
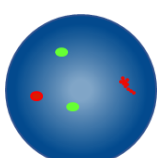
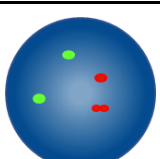
Slaidi ei tohiks analüüsida, kui

- signaalid on ühe filtra analüüsimiseks liiga nõrgad – analüüsi jätkamiseks peaksid signaalid olema eredad, selged ja lihtsalt hinnatavad;
- liiga palju kokkukleepunud/kattuvaid rakke segavad analüüsimist;
- üle 50% rakkudest pole hübriidseeritud;
- 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

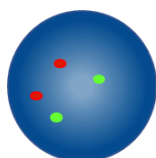
- Igat proovi peaks analüüsima ja tõlgendama kaks analüütikut. Kõik lahknevused tuleks lahendada kolmanda analüütiku hinnanguga
- Analüütikud peaks olema riiklikult tunnustatud standardite kohase väljaõppega.
- Iga analüütik peaks hindama eraldi 100 tuuma iga proovi kohta. Esimene analüütik peaks alustama 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 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 alad ei ole näha
	Lugeda kahe punase signaalina ja kahe rohelise signaalina, kui üks kahest punasest signaalist on difuusne
	Lugeda kahe punase signaalina ja kahe rohelise signaalina, kui ühe punase signaali tühimik on kahest signaalipikkusest väiksem

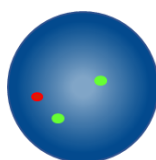
Eeldatavad tulemused

Eeldatav normaalne signaalimuster

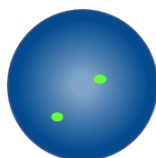


Normaalse raku eeldatav tulemus on kaks punast ja kaks rohelist signaali (2P, 2R).

Eeldatavad ebanormaalsed signaalimustrid



Hemisügootse 5q31.2 deletsiooniga rakus on eeldatav signaalimuster üks punane ja kaks rohelist signaali (1P, 2R).



Homosügootse deletsiooniga rakus on eeldatav signaalimuster puuduv punane ja kaks rohelist signaali (0P, 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 kohandatud, tuleks sündmusest teavitada riiklikule pädevale asutusele. Pädevate ametiasutuste loend on esitatud lehel <http://ec.europa.eu/growth/sectors/medical-devices/contacts/>.

Spetsiifilised toimivusarvustused

Analüütiline spetsiifilisus

Analüütiline spetsiifilisus on vaid õige lookusega hübridiseeritud signaalide protsent. Analüütiline spetsiifilisus saavutati kokku 200 sihtmärk-lookuse analüüsimisel. Analüütiline spetsiifilisus arvutati, jagades õige lookusega hübridiseeritud FISH-i signaalide arvu kogu hübridiseeritud FISH-i signaali arvuga.

Tabel 1. Sonidi Del (5q) Deletion Probe analüütiline spetsiifilisus

Sond	Sihtmärk-lookus	Õige lookusega hübridiseeritud signaalide arv	Hübridiseeritud signaalide koguarv	Spetsiifilisus (%)
Punane EGR1	5q31.2	200	200	100
Roheline 5p15.3	5p15.3	200	200	100

Analüütiline tundlikkus

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

Tabel 2. Sonidi Del (5q) Deletion Probe analüütiline tundlikkus

Eeldatava signaalimustri rakkude arv	Hinnatava signaaliga rakkude arv	Tundlikkus (%)	95% usaldusvahemik
4944	5000	98,88	98,55—99,14

Normaalse väljaarvamise piirväärtuste kirjeldus

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

Normaalne väljaarvamise piirväärtus määrati proovidega, mis olid negatiivsed ümberkorralduse suhtes, mida sond peaks tuvastama, ja beeta-pöördfunktsiooniga. Iga proovi kohta salvestati 100 interfaasiraku signaalimustrid kahe sõltumatu analüütiku poolt, kokku 200 proovi kohta.

Tabel 3. Sonidi Del (5q) Deletion Probe normaalse väljaarvamise piirväärtuste kirjeldus

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

Laborid peavad oma andmete põhjal väljaarvamise piiri kinnitama^{7,8}.

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 viiel järjestikusel päeval.

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

Reprodutseeritavus arvutati, kasutades katse ajal uuritud muutujate vahelist ühilduvust.

Tabel 4. Sonidi Del (5q) Deletion Probe reprodutseeritavus ja täpsus

Reprodutseeritavuse uuring	Proov	Ühilduvus (%)
Päevasisene/päevadevaheline/asutustevaheline	Negatiivne	100
	Tugevalt positiivne	100
Partiidevaheline	Negatiivne	83
	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 413 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, arvutades 1–proovi proportsioonide testi koos jätkuva korrigeerimisega.

Tabel 5. Sonidi Del (5q) Deletion Probe kliiniline toimivus

Ümberkorraldus	Levimus				
	Kirjanduse ülevaade (%)	95% LCI (%)	Asutus 1 (%)	Asutus 2 (%)	95% UCI (%)
AML koos 5q kao / 5q ümberkorralduse / 5. monosoomia „5q ebanormaalsusega“	6	2,5	9	10,93	13,1
MDS koos 5q kao/ümberkorraldusega	8	3,8			15,6

Lisateave
 Lisateavet saate kontakteerudes ettevõtte CytoCell tehnilise toe osakonnaga.
Tel: +44 (0)1223 294048
E-mail: techsupport@cytozell.com
W: www.ogt.com

Viited

1. Ebert, Best Pract Res Clin Haematol 2010;23(4):457-461
2. Swerdlow *et al.*, (eds.) WHO Classification of Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissue, Lyon, France, 4th edition, IARC, 2017
3. Fang *et al.*, Cell Reports 2014;8(5):1328-1338
4. Boulwood *et al.*, Blood;116(26):5803-5811
5. Joslin *et al.*, Blood;110(2):719-726
6. Arsham, MS., Barch, M.J. 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.

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

Patendid ja kaubamärgid
 CytoCell on Cytozell Ltd registreeritud kaubamärk.



Cytozell 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@cytozell.com
W: www.ogt.com