



A Sysmex Group Company



Kasutusjuhend

REF: LPH 076-S / LPH 076

Sond IGH/cMYC (MYC) Plus Translocation, Dual Fusion Probe



AINULT ERIALASEKS KASUTAMISEKS



www.cytocell.com

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

Piirangud

Seade on loodud tuvastama murdepunktidega ümberkorraldusi sondikomplekti punase ja rohelise klooniga kaetud piirkonnas, mis sisaldab *MYC* ja *IGH* piirkondi. Piirkonnast väljajäävaid murdepunkte või alternatiivseid ümberkorralduste variante, mis jäävad selle piirkonna sisse, ei pruugita selle tootega tuvastada.

See analüüs pole ette nähtud kasutamiseks iseseisva diagnostilise vahendina, prenataalseks analüüsimiseks, populatsioonipõhiseks skriininguks, patsiendilähedaseks analüüsimiseks või iseenalal 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 IGH/cMYC (MYC) Plus Translocation, Dual Fusion Probe on kvalitatiivne, mitteautomaatne, fluorestsents *in situ* hübridisatsiooni (FISH) uuring, mida kasutatakse 8. kromosoomi 8q24.21 piirkonnas ja 14. kromosoomi 14q32.3 piirkonnas vaheliste kromosomaalsete ümberkorralduste tuvastamiseks Camoy lahuses (3:1 metanool/atseethape) fikseeritud hematoloogilist tuletatud rakuspensioonides, mis pärinevad kinnitatud või kahtlustatud B-rakulise lümfoproliferatiivse haigusega patsientidelt.

Näidustused

See toode on loodud täiendusena teistele kliinilistele ja histopatoloogilistele uuringutele tunnustatud diagnostilistes ja kliinilistes raviteedes, kus teadmised *IGH-MYC* translokatsiooni 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 vastandvärvisemisega. Seejärel võimaldab fluorestsentsmikroskoopia hübridiseeritud sondi visualiseerimist sihtmärkmaterjalil.

Sondi teave

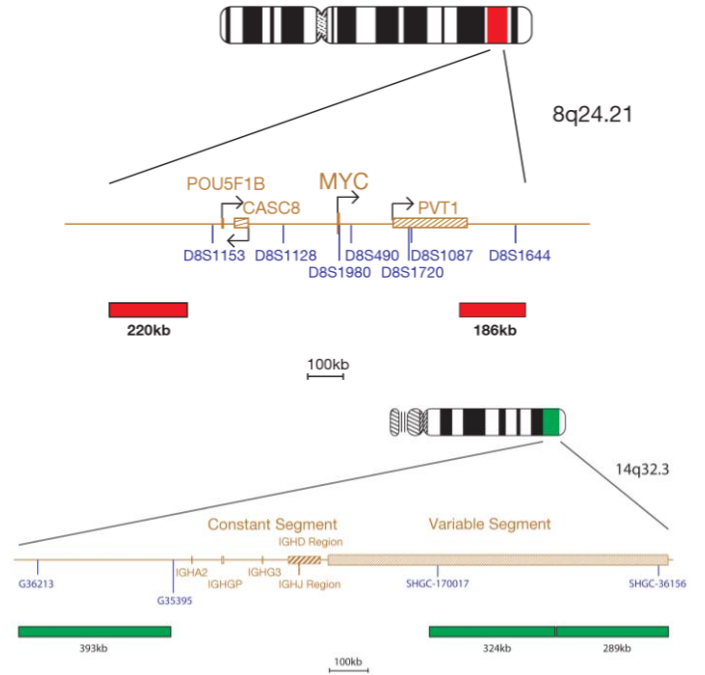
Translokatsioon t(8;14)(q24;q32), mis hõlmab *IGH* (immuunglobuliini raske lookus) geeni asukohas 14q32.33 ja *MYC* (*MYC* protoonkogeeni, *bHLH* transkriptsioonifaktor) onkogeeni asukohas 8q24, on tuntud sagelisesne rekurrentne kõrvalekalle B-rakulise pahaloomulise protsessiga patsientidel.

IGH-MYC ümberkorraldusi leitakse diagnoosimisel kuni 85% Burkitti lümfoomi juhtudest¹. Neid nähakse ka difuusse suurerakulise B-lümfoomi (DLBCL)², hulgiüeloomi ja plasmablastsete lümfoomide puhul^{3,4}.

IGH-MYC ümberkorralduses on 14. kromosoomi murdepunktid koondunud immuunglobuliini raske ahela introni enhaneri kitsasse piirkonda 5', kusjuures 8. kromosoomi murdepunktid võivad esineda kuni 340 kb *MYC*-st ülesvoolu ilma eelistatava saidita⁵. Translokatsioon viib *MYC* *IGH* enhaneri vahetusse läheusse ja põhjustab *MYC* ülesreguleerimist. Transkriptsioonifaktori üleekspressioon stimuleerib geeni amplifikatsiooni, mis põhjustab kontrollimatut rakuproliferatsiooni⁶.

Sondi spetsifikatsioon

cMYC, 8q24.21, punane
IGH, 14q32.33, roheline



IGH/cMYC Plus toode sisaldab rohelisega märgistatud sonde, mis on *IGH* piirkonna konstantse segmendi suhtes proksimaalsed ja muutvas segmendis, ja punasega märgistatud *cMYC* sonde. *cMYC* sondisegu sisaldab 220 kb *cMYC* (MYC) geeni suhtes tsentromeerset sondi ja teist 186 kb *cMYC* geeni suhtes telomeerset piirkonda hõlmavat sondi, sh marker D8S1644.

Tarnitavad materjalid

Sond 50 µl viali kohta (5 analüüsi) või 100 µl viali kohta (10 analüüsi)
Sondid tarnitakse eelsegatuna hübridiseerimislahuses (formamiid, dekstraansulfaat, naatriumsitraadi soolalahus (saline-sodium citrate, SSC)) ja on valmis kasutamiseks.

Vastandvärv

150 µl viali kohta (15 analüüsi)
Vastandvärv on DAPI, pleekimisvastane (Sisaldus: 0,125 µg/ml DAPI (4,6-diamidino-2-fenüüliindool)).

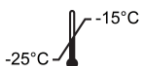
Hoiatused ja ettevaatusabinõud

1. *In vitro* diagnostiliseks kasutamiseks. Ainult erialaseks kasutamiseks.
2. DNA sondide ja DAPI vastandvärvi käsitsemisel kandke kindaid.
3. Sondi segud sisaldavad formamiidi, mis on teratogeenne; ärge hingake sisse auru ning vältige kontakti nahaga. Käsitsege ettevaatlikult; kasutage kindaid ja laborikittlit.
4. DAPI on potentsiaalne kartsinogeen. Käsitsege ettevaatlikult; kasutage kindaid ja laborikittlit.
5. Vabanege kõigist ohtlikest 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 jätmise võib mõjutada analüüsi toimivust ja põhjustada valepositiivseid/valenegatiivseid tulemusi.
8. Sondi ei tohiks lahjendada ega segada teiste sondidega.
9. Sondi 10µl kasutamata jätmise protokoll denatureerimise etapis võib mõjutada analüüsi toimivust ja põhjustada valepositiivseid/valenegatiivseid tulemusi.

Säilitamine ja käsitsemine

DS227/CE-et v006.00/2020-12-01 (H029 v3 / H078 v2)

Lk 1/4



Komplekti tuleks säilitada külmutatuna temperatuurivahemikus $-25 \dots -15 \text{ }^\circ\text{C}$ kuni kehtivusaaja 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 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 $80 \text{ }^\circ\text{C}$)
2. Kalibreeritud erineva mahuga mikropipetid ja otsikud vahemikus $1\text{--}200 \mu\text{l}$
3. Vesivann, täpse temperatuuriregulaatoriga $37 \text{ }^\circ\text{C}$ ja $72 \text{ }^\circ\text{C}$ juures
4. Mikrotsentrifuugi katsutid ($0,5 \text{ ml}$)
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 $6,5\text{--}8,0$)
10. Niiskuskamber
11. Fluorestsentsmikroskoobi immersioonõli
12. Tsentrifuug
13. Mikroskoobi alusklaasid
14. $24 \times 24 \text{ mm}$ katteklasiid
15. Taimer
16. $37 \text{ }^\circ\text{C}$ 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 fluorfoorid aktiveeruvad ja emiteerivad järgnevatel lainepikkustel:

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

Veenduge, et asjakohased eksitatsiooni- ja emissioonfiltrid, 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 fluorfoori 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 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 kohta⁷.

Lahuse ettevalmistamine

Etanooli lahused

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

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

2x SSC lahus

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 lahus

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 lahus

Lahjendage 1 osa 20-kordset SSC lahust 9 osa destilleeritud veega. Lisage $5 \mu\text{l}$ 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 kuivatuskambrist: slaidid tuleks valmistada tsütogeneetilist kuivatuskambrist kasutades. Optimaalseks slaidi valmistamiseks tuleks kambrist kasutada temperatuuril ligikaudu $25 \text{ }^\circ\text{C}$ ja õhuniiskusel 50%. (Kui tsütogeneetiline kuivatuskamber ei ole kättesaadav, kasutage alternatiivina tömbekappi).
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 soojeneda toatemperatuurile. Tsentrifugige katsuteid lühidalt enne kasutamist.
6. Veenduge, et sondi lahust on ühtlaselt segunenud, kasutades pipetti.
7. Eemaldage $10 \mu\text{l}$ sondi analüüsi kohta ja viige see mikrotsentrifuugi katsutisse üle. Tagastage ülejäänud sond kiiresti külmikusse.
8. Asetage sond ja proovislaid 5 minutiks kuumutusplaadile eelsoojenema temperatuurile $37 \text{ }^\circ\text{C}$ ($\pm 1 \text{ }^\circ\text{C}$).
9. Tilgutage $10 \mu\text{l}$ 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 $75 \text{ }^\circ\text{C}$ ($\pm 1 \text{ }^\circ\text{C}$) 2 minutit.

Hübriidsatsioon

11. Asetage slaid niiskesse valguskindlasse kambrisse temperatuurile $37 \text{ }^\circ\text{C}$ ($\pm 1 \text{ }^\circ\text{C}$), laske seista üleöö.

Hübriidsatsioonijärgsed pesud

12. Eemaldage DAPI külmikust ja laske soojeneda toatemperatuurile.
13. Eemaldage ettevaatlikult katteklasiid ja kõik liimijääd.
14. Kastke slaidid 2 minutiks ilma segamata 0,4-kordsesse SSC lahusesse (pH $7,0$) temperatuuril $72 \text{ }^\circ\text{C}$ ($\pm 1 \text{ }^\circ\text{C}$).
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 $10 \mu\text{l}$ pleekimisvastast DAPI-d.
17. Katke katteklasiiga, eemaldage mullid ja laske värvil pimedas kujuneda 10 minutit.
18. Vaadake fluorestsentsmikroskoobiga (vt **Fluorestsentsmikroskoobi soovitus**).

Valmis slaidide stabiilsus

Valmis slaidid on analüüsivald 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 vähene rangus 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

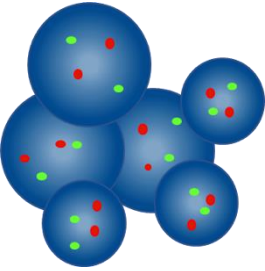
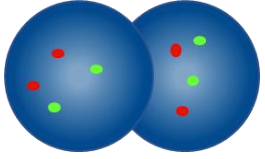
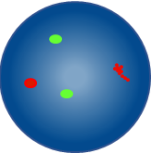
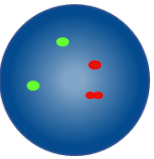
Slaidi kvaliteedi hindamine

Slaidi ei tohiks analüüsida, kui

- signaalid on ühe 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 fluorestsentshägusid, mis segab signaali – optimaalsetel slaididel peaks taust tunduma tume või must ja puhas;
- rakutuuma piire ei saa eristada ja need pole terviklikud.

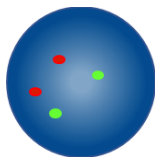
Analüüsi eeskirjad

- Igat proovi peaks analüüsima ja tõlgendama kaks analüütikut. Kõik lahknemused tuleks lahendada kolmanda analüütiku hinnanguga
- Analüütikud 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 kokkukleepunud või tsütoplasma jääkidega kaetud ega autofluorestsentseeritud 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 alasid 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

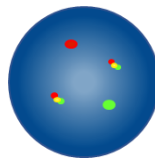
Eeldatavad tulemused

Eeldatav normaalne signaalimuster



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

Eeldatav ebanormaalne signaalimuster



t(8;14)(q24.21;q32.3) translokatsiooniga rakus on eeldatav signaalimuster üks punane, üks roheline ja kaks fusiooni (1P, 1R, 2F).

Aneuploidsete/tasakaalustamata proovides võivad esineda teised signaalimustrid. Pange tähele, et IGH-MYC translokatsioonist erinevate IGH ümberkorralduste esinemisel võib roheline IGH signaal paista kahestunud.

Teadaolev ristreaktiivsus

Roheline IGH sond võib näidata risthübriidiseerimist 15q11.2 ja 16p11.2 suhtes.

Kõrvalnähtudest teatamine

Kui usute, et see toode ei toimi või selle toimivus on halvenenud ning selle toimel võis esineda kõrvalnäht (nt hiilenenud või valediagnoos, hiilenenud 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 arvatati, jagades õige lookusega hübriidiseeritud FISH-i signaalide arvu kogu hübriidiseeritud FISH-i signaali arvuga.

Tabel 1. Soni IGH/cMYC Plus Translocation, Dual Fusion Probe analüütiline spetsiifilisus

Sond	Sihtmärk-lookus	Õige lookusega hübriidiseeritud signaalide arv	Hübriidiseeritud signaalide koguarv	Spetsiifilisus (%)
Punane cMYC	8q24.21	200	200	100
Roheline IGH	14q32.33	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 arvatati hinnatavate rakkude ja eeldatava signaalimustri protsentuhtena (95%-lise usaldusvahemikuga).

Tabel 2. Soni IGH/cMYC Plus Translocation, Dual Fusion Probe analüütiline tundlikkus

Eeldatava signaalimustri rakkude arv	Hinnatava signaaliga rakkude arv	Tundlikkus (%)	95% usaldusvahemik
473	500	94,6	1

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 saavutati, kasutades normaalsete ja positiivsete patsientide proove. Iga proovi kohta salvestati 100 raku signaalimustrid. Arvatati Youdeni koefitsient, et leida läviväärtus, mille korral Tundlikkus + Spetsiifilisus-1 on maksimaalne.

Tabel 3. Soni IGH/cMYC Plus Translocation, Dual Fusion Probe normaalse väljaarvamise piirväärtuste kirjeldus

Ebanormaalne signaalimuster	Youdeni koefitsient	Normaalne väljaarvamise piir (%)
1P, 1R, 2F	0,99	1

Laborid peavad oma andmete põhjal väljaarvamise piiri kinnitama^{8,9}.

Täpsus ja reprodutseeritavus

Täpsus on analüüsi loomulik varieeruvus korduvalt, samades tingimustes läbiviimisel. Seda hinnati, analüüsides sama partiumbriga soni 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 soni 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 arvatati eeldatava signaalimustri rakkude

protsent.

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

Tabel 4. Sondid IGH/cMYC Plus Translocation, Dual Fusion Probe reproduktseeritavus ja täpsus

Muutuja	Standardhälve (SH)
Täpsus	0,00
Proov-prooviga	0,00
Päev-päevaga	0,00
Partii-partiiga	0,00
Hälve	0,00

Kliiniline toimivus

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

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

Tabel 5. Sondid IGH/cMYC Plus Translocation, Dual Fusion Probe kliiniline toimivus

Muutuja	Tulemus
Kliiniline tundlikkus (tõeselt positiivsete määr) (true positive rate, TPR)	100%
Kliiniline spetsiifilisus (tõeselt negatiivsete määr) (true negative rate, TNR)	100%
Valepositiivsete määr (false positive rate, FPR) = 1 – spetsiifilisus	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

- Perkins AS, Friedberg JW. Hematology Am Soc Hematol Educ Program. 2008;341-8
- Ott G, *et al.*, Blood. 2013 Dec 5;122(24):3884-91
- Walker BA, *et al.*, Blood Cancer J. 2014;4(3):e191
- Elyamany G, *et al.*, Adv Hematol 2015;2015:315289
- Joos *et al.*, Human Molecular Genetics 1992;1(8):625-32
- Erikson J *et al.*, Proc Natl Acad Sci USA 1983;80(3):820-4
- Arsham, MS., Barch, MJ. and Lawce HJ. (eds.) (2017) *The AGT Cytogenetics Laboratory Manual*. New Jersey: John Wiley & Sons Inc.
- Mascarello JT, Hirsch B, Kearney HM, *et al.* Section E9 of the American College of Medical Genetics technical standards and guidelines: fluorescence in situ hybridization. Genet Med. 2011;13(7):667-675.
- Wiktor AE, Dyke DLV, Stupca PJ, Ketterling RP, Thorland EC, Shearer BM, Fink SR, Stockero KJ, Majorowicz JR, Dewald GW. *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