



A Sysmex Group Company



### Kasutusjuhend

REF: LPH 020-S / LPH020

## Sond Del (20q) 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 rohelise kloori kaetud piirkond, mis sisaldab piirkondi 20q12 ja 20q13.1. Piirkonnast väljapole jäävad genoomilisi kadusid või piirkonna osalisi kadusid ei pruugita selle tootega tuvastada.

See analüüs pole ette nähtud kasutamiseks iseseisva diagnostilise vahendina, prenataalseks analüüsimiseks, populatsioonipõhiseks skriininguks, patsiendilähedaseks analüüsimiseks või iseendal analüüsimiseks. See toode on ette nähtud vaid erialaseks laboratoorseks kasutamiseks; kõiki tulemusi tuleks tõlgendada vastava väljaõppega personali poolt võttes arvesse teisi asjakohaseid analüüsitulemusi.

Seda toodet ei ole valideeritud kasutamiseks muude 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 laboratoorsete 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 (20q) Deletion Probe on kvalitatiivne, mitteautomaatne, fluorestsents *in situ* hübriidsatsiooni (FISH) uuring, mida kasutatakse 20. kromosoomi 20q12 ja 20q13.1 piirkonna kromosomaalsete deletsioonide tuvastamiseks Carnoy lahuses (3:1 metanool/atseethape) 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 20q deletsiooni oleku kohta on kliinilise ravi seisukohalt olulised.

### Analüüsi põhimõte

Fluorestsents *in situ* hübriidsatsiooni (FISH) on meetod DNA järjestuste tuvastamiseks metafaasi 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 vastandvärvi abil. Seejärel võimaldab fluorestsentsmikroskoopia hübriidseeritud sondi visualiseerimist sihtmärkmaterjalil.

### Sondi teave

20. kromosoomi pika öla deletsioonid on sageli esinevad kromosomaalsed kõrvalekalded, mis seostatakse müeloidsete pahaloomuliste protsessidega, eriti müeloproliferatiivsed kasvaja (MPN), müelodüsplastilised sündroomid (MDS) ja äge müeloidne leukeemia (AML)<sup>1</sup>.

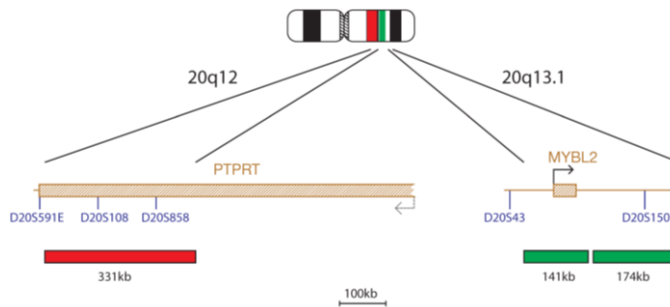
20. kromosoomi pika öla deletsioone [del(20q)] täheldatakse 10% polycythemia vera (PV) ja muude MPN-dega patsientidel<sup>2</sup>. Lisaks leitakse seda 4% MDS-i juhtudest ja 1–2% AML-i juhtudest<sup>2</sup>. MDS-i, mille korral del(20q) on ainuke kõrvalekalle, prognoos on hea, kuid sekundaarsete kõrvalekallete esinemine võib viidata haiguse progresseerumisele<sup>3</sup>.

FISH on eriti kasulik halva kvaliteediga tsütogeneetiliste proovide preparaate ebanormaalsuse esinemise ja ulatuse kinnitamiseks.

Potentsiaalseid sihtgeene on uuritud AML-i/MDS-i ja MPN ühise kustutatud piirkonna kattivas piirkonnas võttes 20q12. Viite geeni ekspresseeriti nii lüüdis kui ka CD34+ rakkudes. Neist geenidest olid kolm eelnevalt kindlaks tehtud: L(3)MBTL1 reguleerib kromatiini struktuuri mitoosi ajal; SRSF6 kodeerib seriinirikast valku, mis on oluline mRNA alternatiivse splicingi reguleerimise ja MYBL2 on MYB transkriptsioonifaktorite perekonnaliige, mis osaleb rakutsüklis juhtimises<sup>2,4,5</sup>.

### Sondi spetsifikatsioon

20q12, punane  
20q13.1, roheline



Punasega märgistatud 20q12 sond hõlmab 331 kb piirkonda PTPRT geeni ja sisaldab markerit D20S108. Rohelisega märgistatud 20q13.1 sondid (141 kb ja 174 kb) hõlmavad MYBL2 geeni ja sisaldavad markerit D20S150.

### Tarnitavad materjalid

**Sond** 50 µl viali kohta (5 analüüsi) või 100 µl viali kohta (10 analüüsi)  
Sondid tarnitakse eelsegatuna hübriidseerimislahuses (formamid, dekstraansulfaat; naatriumtsitraadi 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-fenüülnindool)).

### 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 laborikilti.
4. DAPI on potentsiaalne kartsinogeen. Käsitsege ettevaatlikult; kasutage kindaid ja laborikilti.
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 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 käsitsemine

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



Sond säilib 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
8. Pintsetid
9. Kalibreeritud pH-meeter (või pH indikaatorribad vahemikus pH 6,5–8,0)
10. Niiskuskamber
11. Fluorestsentsmikroskoobi immersioonõli
12. Tsentrifuug
13. Mikroskoobi alusklaasid
14. 24x24 mm katteklasisid
15. Taimer
16. 37 °C inkubaator
17. Katteklasi liim
18. Vortex-segisti
19. Gradueeritud silindrid
20. Magnetsegisti
21. Kalibreeritud termomeeter

#### 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 apokromaatselt objektiiv 60/63-kordse või 100-kordse suurendusega. Selles sondi kompleksis kasutatud fluorofoorid 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 fluorestsentsmikroskoopi jaoks 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/atseteep) 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<sup>6</sup>.

#### 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 lahused

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 lahused

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 lahused

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

##### Denaturatsioon

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

##### Hübridisatsioon

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

##### Hübridisatsioonijärgsed pesud

12. Eemaldage DAPI külmikust ja laske sooeneda toatemperatuurile.
13. Eemaldage ettevaatlikult katteklasisid ja kõik liimijälged.
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. Kastke katteklasisiga, 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 hübridiseerimistingimusi
3. Kasutage lahuste, vesivanni 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 hübridiseerimine 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

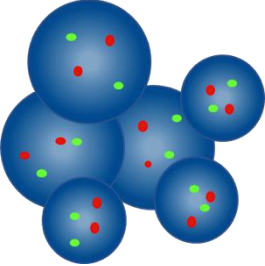
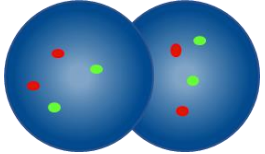
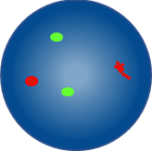
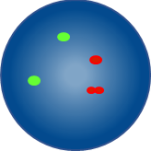
Slaidi ei tohiks analüüsida, kui

- 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 hübridiseeritud;
- rakkude vahel 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

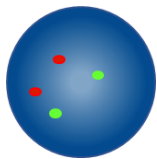
- Iga proovi peaks analüüsima ja tõlgendama kaks analüütikut. Kõik lahknevused tuleks lahendada kordamata analüütiku hinnanguga
- Analüütikud peaksid olema riiklikult tunnustatud standardite kohase väljaõppega.
- Iga analüütik peaks hindama eraldi 100 tuuma iga proovi kohta. Esimene analüütik peaks alustama slaidi vasakult küljelt ja teine analüütik paremat küljelt.
- Iga analüütik peaks oma tulemused üles märkima eraldi andmekandjale.
- Analüüsige vaid terviklikke tuumi, mitte kattuvaid või kokkukleepunud või tsütoplasma jääkidega kaetud ega autofluorestsereivaid tuumi.
- Vältige alasid, kus esineb liigseid tsütoplasma jääke või ebaspetsiifilist hübridiseerimist.

- 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

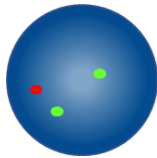
##### Eeldatav normaalne signaalimuster



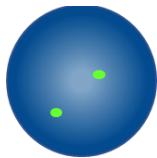
Normaalse raku eeldatav tulemus on kaks punast ja kaks rohelist signaali (2P, 2R).

##### Eeldatavad ebanormaalsed signaalimustrid

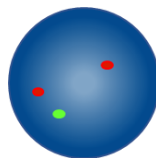
Kustutatud rakud võivad näidata ühte signaalimustrit järgmistest:



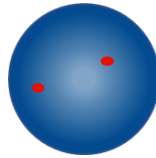
1. Kui deletsioon on interstiitsiaalne, hõlmates riba q12, kuid mitte q13.1, ja on hemisügootne, on eeldatav signaalimuster üks punane ja kaks rohelist signaali (1P, 2R).



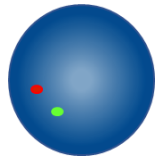
2. Kui deletsioon on interstiitsiaalne, hõlmates riba q12, kuid mitte q13.1, ja on homosügootne, on eeldatav signaalimuster puuduv punane ja kaks rohelist signaali (0P, 2R).



3. Kui deletsioon hõlmab riba q13.1, kuid mitte q12, ja on hemisügootne, on eeldatav signaalimuster kaks punast ja üks roheline signaal (2P, 1R).



4. Kui deletsioon hõlmab riba q13.1, kuid mitte q12, ja on homosügootne, on eeldatav signaalimuster kaks punast ja puuduv roheline signaal (2P, 0R).



5. 20. monosoomi või 20q mõlema riba 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 kõrvanäht (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 toimivuskarakteristikud

##### Analüütiline spetsiifilisus

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

Tabel 1. Sond Del (20q) Deletion Probe analüütiline spetsiifilisus

Sond	Sihtmärk-lockus	Õige lookusega hübriidiseeritud signaalide arv	Hübriidiseeritud signaalide koguarv	Spetsiifilisus (%)
Punane 20q12	20q12	200	200	100
Roheline 20q13.12	20q13.12	200	200	100

##### Analüütiline tundlikkus

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

Tabel 2. Sond Del (20q) Deletion Probe analüütiline tundlikkus

Eeldatava signaalimustriga rakkude arv	Hinnatava signaaliga rakkude arv	Tundlikkus (%)	95% usaldusvahemik
4924	5000	98,48	98,10—98,78

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

Tabel 3. Sondi Del (20q) Deletion Probe normaalseväljaarvamise 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	4	4,4
2R, 1G	1300	200	4	4,4
1R, 1G	1300	200	6	5,7

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 arvutati, kasutades katse ajal uuritud muutujate vahelist ühilduvust.

Tabel 4. Sondi Del (20q) Deletion Probe reprodutseeritavus

Reprodutseeritavuse uuring	Proov	Ühilduvus (%)
Päevasisene/päevadevaheline/asutustevaheline	Negatiivne	100
	Tugevalt positiivne	100
Partiidevaheline	Negatiivne	92
	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 742 proovi koguti teisest asutusest). Sondiga tuvastatud ümberkorralduste esinemismäärasid võrreldi kirjandusallikate ülevaatest kogutud andmetega.

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

Tabel 5. Sondi Del (20q) Deletion Probe kliiniline toimivus

Ümberkorraldus	Levimus				
	Kirjanduse ülevaade (%)	95% LCI (%)	Asutus 1 (%)	Asutus 2 (%)	95% UCI (%)
AML koos 20q kao/ümberkorraldusega	1,0	0,1	5	1,21	6,2
MDS koos 20q kao/ümberkorraldusega	1,7	0,2			7,3

#### Lisateave

Lisateavet saate kontakteerudes ettevõtte CytoCell tehnilise toe osakonnaga.

Tel: +44 (0)1223 294048





E-mail: techsupport@cytoCELL.com

W: www.ogt.com

#### Viited

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.

#### 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