



A Sysmex Group Company



## Návod k použití

REF: LPH 014-S / LPH 014

## Breakapart Probe IGH



POUZE K PROFESIONÁLNÍMU POUŽITÍ



www.cytozell.com

Další informace a více jazyků k dispozici na [www.ogt.com](http://www.ogt.com)

### Omezení

Tento prostředek je navržen tak, aby detekoval přeskupení s body zlomu v oblasti vymezenej červenými a zelenými kopíemi v této sadě sond, což zahrnuje oblast *IGH*. Body zlomu mimo tu oblast nebo variantní přeskupení, plně obsažená v této oblasti, nemusí být tímto prostředkem detekovány.

Tento test není určen k použití v rámci samostatné diagnostiky, prenatálnímu testování, skríningu populace, testování přímo u pacientů nebo prováděním autotestování. Tento produkt je určen pouze k profesionálnímu laboratornímu použití; veškeré výsledky musejí vyhodnotit kvalifikovaní pracovníci se zohledněním dalších relevantních výsledků testů.

Tento produkt nebyl validován pro použití na typech vzorků nebo jiných typech chorob kromě těch, které jsou specifikovány v odstavci předpokládané použití.

Hlášení a interpretace výsledků FISH musejí být v souladu s profesionálnimi standardy praxe a měly by zohledňovat další klinické a diagnostické informace. Tato sada je koncipována jako doplněk dalších diagnostických laboratorních testů. Terapeutické postupy nesmí být zahajovány pouze na základě výsledků testů FISH.

Nedodržení protokolu může ovlivnit funkci a vést k falešně pozitivním/negativním výsledkům.

Tato sada nebyla validována pro jiné účely než ty, které jsou uvedeny v odstavci předpokládané použití.

### Předpokládané použití

Breakapart Probe CytoCell IGH je kvalitativní, neautomatizovaný, fluorescenční *in situ* hybridizační test (FISH) používaný k detekci chromozomálních přeskupení v oblasti 14q32.3 na chromozomu 14 v hematologicky získaných buněčných suspenzích fixovaných v Carnoyově roztoku (3:1 metanol/kyselina octová) od pacientů s potvrzenou nebo předpokládanou akutní lymfoblastickou leukémii (ALL), chronickou lymfocytickou leukémii (CLL), mnohočetným myelomem (MM) nebo nehodgkinským lymfomem (NHL).

### Indikace

Tento produkt byl vytvořen jako doplněk k dalším klinickým a histopatologickým testům v rámci uznávaných diagnostických postupů a postupů klinické péče v případech, kdy by znalost stavu přeskupení *IGH* byla důležitá pro klinickou léčbu.

### Principy testu

Fluorescenční *in situ* hybridizace (FISH) je technika umožňující detektovat sekvence na metafázových chromozomech nebo v interfázích jádroch z fixovaných cytogenetických vzorků. Tato technika využívá sondy DNA, které hybridizují na celé chromozomy nebo na jednotlivé jedinečné sekvence, a slouží jako důležitý doplněk cytogenetické analýzy pomocí G-pruhování. Tuto techniku je nyní možno aplikovat jako základní vyšetřovací nástroj při prenatálním a hematologickém výšetření a při chromozomální analýze soliddního tumoru. Po fixování a denaturaci je cílová DNA k dispozici pro reasociaci na podobně denaturowanou, fluorescenčně označenou sondu DNA, která má komplementární sekvenci. Po hybridizaci se nevázaná a nespecifický vázaná DNA sonda odstraní a DNA se barevně označí pro účely vizualizace. Fluorescenční mikroskopie potom umožňuje vizualizaci hybridizované sody na cílovém materiálu.

### Informace o sondě

Opakující se přeskupení zahrnující gen *IGH* (*lokus pro těžký řetězec imunoglobulinu*) v oblasti 14q32.33, s celou řadou partnerských genů, se objevují u lymfomů a hematologických malignit.<sup>1</sup>

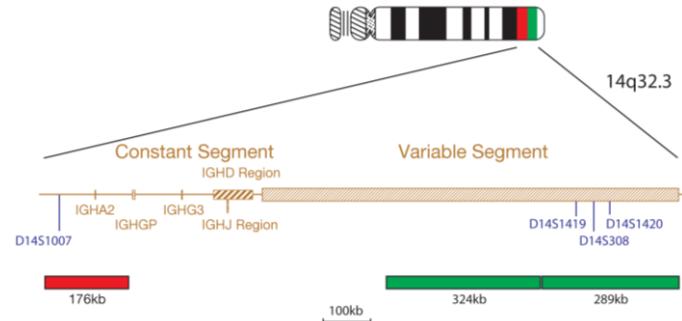
Translokace t(8;14)(q24;q32), zahrnující geny *IGH* a *MYC* v oblasti 8q24, se pravidelně objevují u Burkittova lymfomu<sup>2</sup> a difuzního velkobuněčného B-lymfomu (DLBCL)<sup>3</sup>. K dalšímu přeskupení, často hlášeným u buněčného B-lymfomu patří: translokace t(14;18)(q32;q21) zahrnující geny *IGH* a *BCL2*, objevující se jak u folikulárního lymfomu, tak u DLBCL<sup>4</sup>; a t(11;14)(q13;q32) zahrnující geny *IGH* a *CCND1*, což je typickým znakem lymfomu z pláštových buněk (MCL)<sup>5</sup>.

Translokace *IGH* s množstvím různých partnerských genů se často nalézají u pacientů s mnohočetným myelomem, včetně: translokace t(4;14)(p16;q32) zahrnující *IGH* s *FGFR3* a *NSD2*; translokace t(6;14)(p21;q32) zahrnující *IGH* a *CCND3*; translokace t(11;14)(q13;q32) zahrnující *IGH* a *CCND1*; translokace t(14;16)(q32;q23) zahrnující *IGH* a *MAF* a translokace t(14;20)(q32;q12) zahrnující *IGH* a *MAFB*<sup>6,7</sup>.

Přeskupení *IGH* jsou také hlášena jako opakování se objevující ab normality u pacientů s lymfoplazmocytárním lymfomem (LPL), chronickou lymfocytickou leukémií (CLL), B-buněčným lymfomem extranodální marginální zóny slizničního imunitního systému (MALT) a akutní lymfoblastickou leukémií (ALL)<sup>8</sup>.

Koncepce "breakapart" této sondy umožňuje detekci přeskupení oblasti *IGH* bez ohledu na zapojený partnerský gen nebo chromozom.

### Parametry sondy

*IGHC*, 14q32.33, červená*IGHV*, 14q32.33, zelená

Směs sond *IGH* se skládá ze sondy o délce 176 kb, označené červeně, pokryvající část konstantní oblasti genu a ze dvou zelených sond (324 kb a 289 kb), které pokrývají variabilní oblast genu.

### Dodaný materiál

**Sonda:** 50 µl v jedné lahvičce (5 testů) nebo 100 µl v jedné lahvičce (10 testů) Sondy jsou dodávány předem smichané v hybridizačním roztoku (formamid; dextran sulfát; solný roztok citrátu sodného (SSC)) a jsou připraveny k použití.

**Kontrastní barvivo:** 150 µl v jedné lahvičce (15 testů)

Kontrastní barvivem je DAPI antifade (ES: 0,125 µg/ml DAPI (4,6-diamidin-2-fenylindol)).

### Varování a bezpečnostní pokyny

- Pro diagnostické použití *in vitro*. Výhradně k profesionálnímu použití.
- Při manipulaci s DNA sondami a barvivem DAPI antifade používejte rukavice.
- Směsi v sondách obsahují formamid, což je teratogen; nevdechujte výparu a zamezte kontaktu s pokožkou. Zacházejte s ním opatrně; noste rukavice a laboratorní plášt.
- DAPI je potenciální karcinogen. Zacházejte s ním opatrně; noste rukavice a laboratorní plášt.
- Veškeré nebezpečné materiály likvidujte v souladu se směnicemi pro likvidaci nebezpečného odpadu vašeho zdravotnického zařízení.
- Pracovníci musí být schopni rozlišit červenou, modrou a zelenou barvu.
- Nedodržení předepsaného protokolu a reagencí může ovlivnit funkci a vést k falešně pozitivním/negativním výsledkům.
- Sonda se nesmí ředit ani míchat s jinými sondami.
- Není-li během kroku predenaturace v rámci protokolu použito 10 µl sondy, může to ovlivnit funkci a vést k falešně pozitivním/negativním výsledkům.

### Uchovávání a manipulace

Sadu je třeba uchovávat v mrazničce při teplotách -25 °C až -15 °C až do data exspirace uvedeného na štítku sady. Sonda a lahvička s kontrastními barvivy musí být uloženy v temnu.



Sonda zůstává během cyklu zmrazování a rozmrazování, k nimž dochází při běžném používání, stabilní (jeden cyklus znamená vyjmutí sondy z mrazničky a vrácení do mrazničky) a je fotostabilní až 48 hodin po souvislé vystavení světlu. Je třeba vynaložit veškeré úsilí na omezení expozice světlu a teplotním změnám.

### Potřebné vybavení a materiál, které nejsou součástí dodávky

Je nutné používat kalibrovaná zařízení:

- Varná deska (s pevnou plotnou a přesným ovládáním teploty do 80 °C) DS078/CE-cz v011.00/2020-12-01 (H023 v3)

- Kalibrované mikropipety s různým objemem a špičkami v rozsahu od 1  $\mu$ l do 200  $\mu$ l
- Vodní lázeň s přesným ovládáním teploty od 37 °C do 72 °C
- Mikrocentrifugační zkumavky (0,5 ml)
- Fluorescenční mikroskop (viz oddíl Doporučený fluorescenční mikroskop)
- Mikroskop s fázovým kontrastem
- Čisté plastové, keramické nebo skleněné (z ohnivzdorného skla) lahvičky typu „coplin“
- Chirurgické kleště
- Kalibrovaný pH metr (nebo pH indikační proužky, schopné měřit pH v rozmezí 6,5–8,0)
- Vlhčená nádoba
- Imerzní olej na objektiv fluorescenčního mikroskopu
- Stolní odstředivka
- Mikroskopová sklíčka
- Krycí sklíčka 24 x 24 mm
- Stopky
- Inkubátor 37 °C
- Lepidlo na bázi kaučukového roztoku
- Vířivý mixér
- Odměrné válce
- Magnetická míchačka
- Kalibrovaný teploměr

#### **Volitelné vybavení, které není součástí dodávky**

- Cytogenetická sušící komora

#### **Potřebné reagencie, které nejsou součástí dodávky**

- 20x fyziologický roztok citrátu sodného (SSC)
- 100% etanol
- Tween-20
- 1 M hydroxidu sodného (NaOH)
- 1 M kyseliny chlorovodíkové (HCl)
- Demineralizovaná voda

#### **Doporučení ohledně fluorescenčního mikroskopu**

Pro optimální vizualizaci použijte 100 wattovou rtuťovou lampa nebo podobnou a apochromatické objektivy 60/63x nebo 100x s imerzním olejem. Fluorofory použité v této sadě sondy budou excitovat a emitovat při následujících vlnových délkách:

Fluorofor	Excitace <sub>max</sub> [nm]	Emise <sub>max</sub> [nm]
Zelená	495	521
Cervená	596	615

Zajistěte, aby byl mikroskop vybaven příslušnými excitačními a emisními filtry, které pokrývají výše uvedené vlnové délky. Pro optimální simultánní vizualizaci zelených a červených fluoroforů použijte třípásmový DAPI/zelený/červený filtr nebo dvoupásmový zelený/červený filtr.

Před použitím zkontrolujte správnou funkci fluorescenčního mikroskopu. Použijte imerzní olej vhodný pro fluorescenční mikroskopy a se speciálním složením pro nízkou autofluorescenci. Dbejte na to, aby nedošlo ke smíchání barev i ADF antifade s imerzním olejem do mikroskopu, protože by tak došlo k zastření signálů. Dodržujte doporučení výrobce týkající se životnosti lampy a stáří filtrů.

#### **Příprava vzorků**

Sada je určena k použití u hematologicky získaných buněčných suspenzí fixovaných v Carnoyově fixačním roztoku (3:1 metanol/kyselina octová), které jsou připraveny v souladu s pokyny laboratoře nebo zdravotnického zařízení. Na mikroskopová sklíčka naněte vzorky usušené na vzdachu v souladu se standardními cytogenetickými postupy. *Cytogenetics Laboratory Manual AGT* (Příručka pro cytogenetické laboratoře) obsahuje doporučení pro odběr, kultivaci a získávání vzorků a pro přípravu sklíček<sup>9</sup>.

#### **Příprava roztoků**

##### **Etanolové roztoky**

Rozdělte 100% etanol demineralizovanou vodou v následujících poměrech a řádně promíchejte.

- 70% etanol - 7 dílů 100% etanolu na 3 díly purifikované vody
- 85% etanol - 8,5 dílů 100% etanolu na 1,5 díly purifikované vody

Roztoky skladujte až 6 měsíců při pokojové teplotě ve vzduchotěsné nádobě.

##### **Roztok 2xSSC**

Zředte 1 díl roztoku 20xSSC 9 díly demineralizované vody a řádně promíchejte. Zkontrolujte pH a pomocí NaOH nebo HCl podle potřeby upravte na pH 7,0. Roztok skladujte ve vzduchotěsné nádobě při pokojové teplotě po dobu až 4 týdnů.

##### **Roztok 0,4xSSC**

Zředte 1 díl roztoku 20xSSC 49 díly demineralizované vody a řádně promíchejte. Zkontrolujte pH a pomocí NaOH nebo HCl podle potřeby upravte na pH 7,0. Roztok skladujte ve vzduchotěsné nádobě při pokojové teplotě po dobu až 4 týdnů.

##### **Roztok 2xSSC, 0,05% roztok Tween-20**

Zředte 1 díl roztoku 20xSSC 9 díly demineralizované vody. Na 10 ml přidejte 5  $\mu$ l roztoku Tween-20 a řádně promíchejte. Zkontrolujte pH a pomocí NaOH nebo HCl podle potřeby upravte na pH 7,0. Roztok skladujte ve vzduchotěsné nádobě při pokojové teplotě po dobu až 4 týdnů.

#### **Protokol FISH**

(Poznámka: Dbejte, aby vždy byla omezena expozice sondy a kontrastních barviv osvětlení v laboratoři).

#### **Příprava sklíčka**

- Naneste buněčný vzorek na mikroskopové sklíčko. Nechte ho uschnout. (Volitelně při použití cytogenetické sušící komory: vzorky lze na sklíčka nanést pomocí cytogenetické sušící komory. K optimálnímu nanesení buněčných vzorků by měla komora pracovat při teplotě přibližně 25 °C a vlhkosti 50%. Pokud cytogenetickou sušící komoru nemáte, použijte jako alternativu digestoř.)
- Sklíčko ponořte na 2 minuty do roztoku 2xSSC při pokojové teplotě. Neprotřepávejte.
- Dehydratujte pomocí etanolové série (70%, 85% a 100%), vždy po dobu 2 minut při pokojové teplotě.
- Nechte ho uschnout.

#### **Predenaturace**

- Vyjměte sondu z mrazničky a nechejte ji zahřát na pokojovou teplotu. Laboratorní lahvičky před použitím krátce odstředte.
- Dbejte, aby byl roztok sondy rovnoraměně promichán pipetou.
- Na každý test naberte 10  $\mu$ l sondy a přeneste ji do mikrocentrifugační zkumavky. Zbytek sondy vrátě rychle do mrazničky.
- Sondu a sklíčko se vzorkem umístěte na varnou desku a předeďřívejte po dobu 5 minut při teplotě 37 °C (+/- 1 °C).
- Kápněte 10  $\mu$ l směsi sondy na buněčný vzorek a opatrně jej překryjte krycím sklíčkem. Neprodryšně uzavřete pomocí kaučukového lepidla a nechejte lepidlo úplně uschnout.

#### **Denaturace**

- Zahříváním sklíčka na varné desce po dobu 2 minut při teplotě 75 °C (+/- 1 °C) vzorek a sondu souběžně denaturujte.

#### **Hybridizace**

- Sklíčko uložte na noc do vlhké neprůsvitné nádobky při teplotě 37 °C (+/- 1 °C).

#### **Post-hybridizační vymývání**

- Vyjměte DAPI z mrazničky a nechejte ho zahřát na pokojovou teplotu.
- Opatrně sejměte krycí sklíčko a odstraňte všechny zbytky lepidla.
- Sklíčko ponořte na 2 minuty do roztoku 0,4xSSC (pH 7,0) při teplotě 72 °C (+/- 1 °C). Neprotřepávejte.
- Sklíčko osušte a na 30 sekund ponořte do roztoku 2xSSC, 0,05% Tween-20 při pokojové teplotě. Neprotřepávejte.
- Sklíčko osušte a na každý vzorek naneste 10  $\mu$ l DAPI antifade.
- Přikryjte krycím sklíčkem, odstraňte veškeré bublinky, uložte do temna a po dobu 10 minut nechejte využít barvu.
- Zkontrolujte pomocí fluorescenčního mikroskopu (viz **Doporučení ohledně fluorescenčního mikroskopu**).

#### **Stabilita připravených sklíček**

Pokud jsou hotová sklíčka uložena v temnu a při pokojové teplotě nebo nižší, lze je analyzovat až po dobu 1 měsíce.

#### **Doporučení pro zpracování**

- Vypalování nebo stárnutí sklíček může redukovat fluorescenční signál.
- Podmínky hybridizace mohou být nepříznivě ovlivněny použitím reagencie, které nejsou dodány nebo doporučeny společností Cytocell Ltd.
- K měření teplot roztoků, vodních lázní a inkubátorů používejte kalibrovaný teploměr, protože tyto teploty jsou velmi důležité k zajištění optimální funkce produktu.
- Koncentrace promývacího roztoku, pH a teplota jsou důležité, protože nedostatečná důslednost může vést k nespecifickému navázání sondy a přílišná důslednost naopak k absenci signálu.
- Neúplná denaturace může vést k absenci signálu a příliš dlouhá denaturace může rovněž způsobit nespecifické navázání.
- Nadměrná hybridizace může způsobit dodatečné nebo neočekávané signály.
- Uživatelé by si měli před použitím testu pro diagnostické účely optimalizovat a protokol pro své vlastní vzorky.
- Neoptimální podmínky mohou vést k nespecifickému vázání, které může být nesprávně interpretováno jako signál sondy.

#### **Interpretace výsledků**

##### **Vyhodnocení kvality sklíčka**

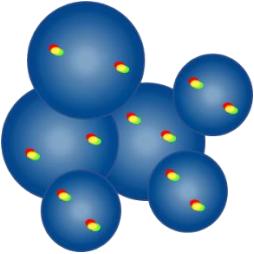
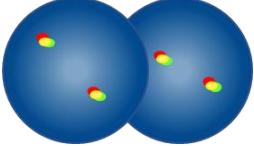
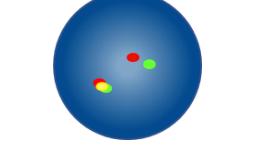
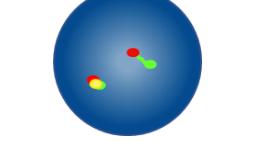
Sklíčko by se nemělo analyzovat, jestliže:

- jsou signály příliš slabé, a nelze je proto analyzovat jednoduchými filtry – pro pokračování v analýze musejí být signály jasné, výrazné a snadno hodnotitelné;
- analýza brání velký počet sluhů buněk nebo překrývajících se buněk;
- nebylo hybridizováno >50% buněk;
- mezi buňkami se nachází příliš mnoho fluorescenčních částic a/nebo fluorescenčního zákalu, který ruší signály – u optimálních sklíček by mělo být pozadí tmavé nebo černé a číré;
- není možné rozlišit hranice buněčných jader a hranice nejsou nepoškozené.

#### **Pokyny pro analýzu**

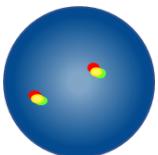
- Každý vzorek musí analyzovat a vyhodnotit dva analytici. Jakékoli nesrovnalosti se musí vyřešit hodnocením třetího analytika.
- Všichni analytici musí mít odpovídající kvalifikaci v souladu s uznanými národními standardy.
- Všichni analytici musí provést nezávislé hodnocení 100 jader každého vzorku. První analytik musí začít provádět analýzu z levé strany sklíčka a druhý analytik z pravé strany.

- Každý analytik musí zdokumentovat své výsledky na samostatných listech.
- Analyzujte pouze nepoškozená jádra, nikoli překrývající se nebo nahromaděná jádra ani jádra překrytá cytoplazmatickým odpadem či jádra s vysokým stupněm autofluorescence.
- Vyhnete se místům, kde je příliš mnoho cytoplazmatického odpadu nebo kde se vyskytuje nespecifická hybridizace.
- Intenzita signálu se může lišit, dokonce i v rámci jediného jádra. V takových případech použijte jednoduché filtry a/nebo upravte ohnískovou rovinu.
- Za neoptimálních podmínek se mohou signály jevit jako rozptýlené. Jestliže se dva signály stejně barvy vzájemně dotýkají, nebo je mezi nimi vzdálenost menší než dvě šířky signálu, nebo pokud dva signály spojuje slabý pruh, počítejte je jako jeden signál.
- Pokud při analýze dvoubarevných zlomových sond není mezera mezi červeným a zeleným signálem větší než dvě signální šířky, počítejte to jako nepřeskupený/fúzní signál
- Pokud si nejste jisti, zda lze buňku analyzovat či nikoli, analýzu neprovádějte.

Pokyny pro analýzu	
	Nepočítejte – jádra jsou příliš těsně u sebe, takže není možno určit hranice
	Nepočítejte překrývající se jádra – všechny oblasti obou jader nejsou viditelné
	Počítejte jako dva fúzní signály - mezera mezi červeným a zeleným signálem je menší než dvě šířky signálu
	Počítejte jako dva fúzní signály - jeden fúzní signál je difúzní

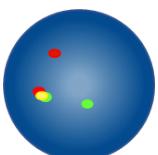
#### Předpokládané výsledky

##### Předpokládaný vzorec normálního signálu

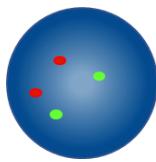


U normální buňky se předpokládají dva červené/zelené fúzní signály (2F). Díky variabilitě oblasti IGHV se červený a zelený signál ve fúzním signálu mohou jevit jako signály v těsné blízkosti, ale ne jako signál spojený.

##### Předpokládané vzorce abnormálního signálu



V buňce s monoalelickou translokací IGH bude mít předpokládaný vzorec signálu jeden červený, jeden zelený signál a jednu fúzi (1Č, 1Z, 1F).



V případě bialelické translokace nebude mít předpokládaný vzorec signálu žádnou fúzi a bude mít jeden červený a dva zelené signály (2Č, 2Z).

U aneuploidních/nevyvážených vzorků jsou možné jiné vzory signálu.

#### Známá zkřížená reaktivita

Zelená sonda IGH může vykazovat zkříženou hybridizaci na 15q11.2 a 16p11.2.

#### Hlášení nežádoucích účinků

Pokud se domníváte, že prostředek nefungoval správně nebo došlo ke zhoršení jeho funkčních charakteristik, což mohlo přispět ke vzniku nežádoucích událostí (např. zpožděná nebo chybána diagnóza, zpožděná nebo nevhodná léčba), je nutné tuto skutečnost neprodleně oznámit výrobci ([e-mail: vigilance@ogt.com](mailto:vigilance@ogt.com)).

V odpovídajících případech je rovněž nutné událost oznámit příslušnému národnímu orgánu. Seznam kontaktních míst pro vigilanci najdete na adrese: <http://ec.europa.eu/growth/sectors/medical-devices/contacts/>.

#### Specifické funkční charakteristiky

##### Analytická specificita

Analytická specificita je procento signálů, které hybridizují do správného lokusu a na žádné jiné místo. Analytická specificita byla stanovena analýzou celkem 200 cílových lokusů. Analytická specificita byla vypočtena jako počet signálů FISH, které hybridizovaly na správný lokus děleno celkovým počtem hybridizovaných signálů FISH.

Tabulka 1. Analytická specificita Breakapart Probe IGH

Sonda	Cílový lokus	Počet signálů hybridizovaných na správný lokus	Celkový počet hybridizovaných signálů	Specificita (%)
Cervená IGHC	14q32.3	200	200	100
Zelená IGHV	14q32.3	200	200	100

##### Analytická citlivost

Analytická senzitivita je procento započitatelných interfázních buněk s předpokládaným normálním signálovým vzorem. Analytická senzitivita byla stanovena analýzou interfázních buněk napříč různými normálními vzorky. Senzitivita byla vypočtena jako procento započitatelných buněk s očekávaným signálovým vzorem (s 95% intervalem spolehlivosti).

Tabulka 2. Analytická senzitivita Breakapart Probe IGH

Počet buněk s předpokládanými vzory signálu	Počet buněk se započitatelnými signály	Citlivost (%)	Interval spolehlivosti 95 %
490	500	98,0	1,4

#### Charakteristika normálních mezních hodnot

Normální mezní hodnota ve spojení se sondami FISH je maximální procento započitatelných interfázních buněk se specifickým abnormálním signálovým vzorem, při kterém se vzorek považuje pro tento signálový vzor za normální.

Normální mezní hodnota byla stanovena pomocí vzorků normálních a pozitivních pacientů. Pro každý vzorek byly zaznamenány signálové vzory 100 buněk. Byl vypočten Youdenův index k nalezení prahové hodnoty, u níž je hodnota senzitivita + specificita = 1 maximální.

Tabulka 3. Charakteristika normálních mezních hodnot Breakapart Probe IGH

Vzorec abnormálního signálu	Youdenův index	Normální mezní hodnota (%)
1Č, 1Z, 1F	0,99	7

Laboratoř si musí ověřit mezní hodnoty pomocí vlastních dat<sup>10, 11</sup>.

#### Přesnost a reprodukovatelnost

Přesnost je míra přirozeného kolísání testu při několikanásobném opakování za stejných podmínek. Hodnocení bylo provedeno opakovánou analýzou sond stejněho čísla šarže, kdy testy probíhaly na stejném vzorku za stejných podmínek těsně jeden.

Reprodukční možnost je míra variabilnosti testu a byla stanovena na základě variabilnosti mezi jednotlivými vzorky, jednotlivými dny a jednotlivými dávkami. Reprodukovatelnost mezi jednotlivými dny byla vyhodnocena analýzou stejných vzorků ve třech různých dnech. Reprodukovatelnost mezi jednotlivými šaržemi byla vyhodnocena analýzou stejných vzorků tentýž den pomocí tří různých čísel šarž sondy. Reprodukovatelnost mezi jednotlivými vzorky byla hodnocena analýzou tří replikátu vzorku ve stejný den. Pro každý vzorek byly zaznamenány

signálové vzory 100 interfázních buněk a bylo vypočteno procento buněk s předpokládaným signálovým vzorem.

Reprodukční možnost a přesnost byly vypočteny jako směrodatná odchylka (STDEV) mezi repliky pro každou proměnnou a jako celková střední hodnota STDEV.

Tabulka 4. Reprodukční možnost a přesnost Breakapart Probe IGH

Variabilní	Směrodatná odchylka (STDEV)
Přesnost	1,10
Mezi vzorky	0,53
Mezi dny	1,03
Mezi šaržemi	0,19
Celková odchylka	0,87

#### Klinická funkce

Klinická funkce byla stanovena na základě reprezentativního vzorku u populace, pro niž je produkt určen. Pro každý vzorek byly zaznamenány signálové vzory ≥100 interfázních buněk. Bylo provedeno normální/abnormální stanovení porovnáním procenta buněk se specifickým abnormálním signálovým vzorem v srovnání s normální mezní hodnotou. Výsledky byly poté porovnány se známým stavem vzorku.

Výsledky klinických dat byly analyzovány za účelem stanovení senzitivity, specificity a mezní hodnoty pomocí jednodimenzního přístupu.

Tabulka 5. Klinická funkce Breakapart Probe IGH

Variabilní	Výsledek
Klinická senzitivita (míra skutečné pozitivity, TPR)	99,2%
Klinická specificita (míra skutečné negativity, TNR)	99,9%
Míra falešné pozitivity (FPR) = 1 – specifičnost	0,1%

#### Další informace

Další informace o produktu vám sdělí oddělení technické podpory společnosti CytoCell.

T: +44 (0)1223 294048

E-mail: [techsupport@cytocell.com](mailto:techsupport@cytocell.com)

Web: [www.cytoCell.com](http://www.cytoCell.com)

#### Reference

1. Gozzetti A, et al., Cancer Res. 2002 Oct 1;62(19):5523-7
2. Ferry JA. Oncologist 2006 Apr;11(4):375-83
3. Li S, et al., Mod Pathol. 2012 Jan;25(1):145-56
4. Snuderl M, et al., Am J Surg Pathol. 2010 Mar;34(3):327-40
5. Vose JM., Am J Hematol. 2013;88(12):1082-8
6. Bergsagel PL, et al., Proc Natl Acad Sci USA. 1996 Nov 26;93(24):13931-6
7. Sawyer JR. Cancer Genet. 2011 Jan;204(1):3-12
8. Swerdlow et al., (eds.) WHO Classification of Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissue, Lyon, France, 4th edition, IARC, 2017
9. Arsham, MS., Barch, MJ. and Lawce HJ. (eds.) (2017) *The AGT Cytogenetics Laboratory Manual*. New Jersey: John Wiley & Sons Inc.
10. 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.
11. 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.

#### Průvodce symboly

REF	cz: Katalogové číslo
IVD	cz: Zdravotnický diagnostický prostředek <i>in vitro</i>
LOT	cz: Kód šarže
	cz: Viz návod k použití
	cz: Výrobce
	cz: Datum spotřeby
	cz: Omezení teploty
	cz: Chraňte před slunečním světlem
	cz: Množství dos足uje k provedení <n> testů
CONT	cz: Obsah

#### Patenty a ochranné známky

CytoCell je registrovaná ochranná známka společnosti Cytocell Ltd.

#### Cytocell Ltd.

Oxford Gene Technology,  
418 Cambridge Science Park,  
Milton Road,  
Cambridge, CB4 0PZ, Spojené království  
T: +44(0)1223 294048  
F: +44(0)1223 294986  
E-mail: [probes@cytocell.com](mailto:probes@cytocell.com)  
W: [www.ogt.com](http://www.ogt.com)

