



A Sysmex Group Company



Kasutusjuhend

REF: LPH 019-S / LPH 019

Sond E2A (TCF3) Breakapart 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 seotud piirkonnas, mis sisaldab E2A (TCF3) piirkonda. 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 analüüsiks, populatsioonipõhiseks skriininguks, patsiendilähedaseks analüüsiks või iseendal 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 proovitüüpide ega haigustüüpide korral, kui ainult nende, mis on kasutusotstarbes täpsustatud. FISH-i tulemuste tõlgendamine ja teavitamine peab vastama erialaste kutsestandarditele ja peaks arvesse võtma muud kliinilist ja diagnostilist teavet. See komplekt on ette nähtud muude laboratoorse analüüside täiendamiseks ja ravi ei tohiks alustada, põhinedes vaid FISH-i tulemustel.

Protokoll järgimata jätmise võib mõjutada analüüsi toimivust ja põhjustada valepositiivseid/negatiivseid tulemusi.

Seda komplekti ei ole valideeritud kasutamiseks muul kui kasutusotstarbes esitatud eesmärgil.

Kasutusotstarve

Sond CytoCell E2A (TCF3) Breakapart Probe on kvalitatiivne, mitteautomaatne, fluorestsents *in situ* hübriidatsiooni (FISH) uuring, mida kasutatakse 19. kromosoomi 19q13.3 piirkonna kromosomaalsete ümberkorralduste tuvastamiseks Carnoy lahuses (3:1 metanool/atseetahape) fikseeritud hematoloogilisel tuletatud rakususpensioonides, mis pärinevad kinnitatud või kahtlustatud ägeda lümfoblastse leukeemiaga (ALL) patsientidelt.

Näidustused

See toode on loodud täiendusena teistele kliinilistele ja histopatoloogilistele uuringutele tunnustatud diagnostilistes ja kliinilistes raviteedes, kus teadmised E2A (TCF3) ümberkorralduse oleku kohta on kliinilise ravi seisukohalt olulised.

Analüüsi põhimõte

Fluorestsents *in situ* hübriidatsiooni (FISH) on meetod DNA järjestuste tuvastamiseks metafasi kromosoomides või fikseeritud tsütogeneetiliste proovide interfaasi tuumades. Meetod kasutab DNA sonde, mis hübriidseeritakse kogu kromosoomi või üksiku unikaalse järjestusega ning toimib G-vöödi tsütogeneetiliste analüüsides võimeka täiendusena. Seda meetodit saab nüüd rakendada prenataalse, hematoloogilise ja tahke kasvaja kromosomaalse analüüsi esmatahtsa uuringu tööriistana. Fikseeritud ja denatureeritud sihtmärk-DNA on saadaval sarnase denatureeritud, fluorestsentsmarkeriga DNA sondiga paardumiseks, millel on komplementeerne järjestus. Peale hübriidseerimist eemaldatakse seondumata ja ebaspetsiifiliselt seotud DNA sond ning DNA visualiseeritakse vastandvärvimisega. Seejärel võimaldab fluorestsentsmikroskoopia hübriidseeritud sond visualiseerimist sihtmärkmaterjalil.

Sondi teave

TCF3 (transkriptsioonifaktor 3) geen on asukohas 19p13.3. TCF3 hõlmavad translokatsioonid on ühed kõige sagedamatest ümberkorraldustest lapsee B-rakulise ägeda lümfoblastseleukeemia (ALL) korral^{1,2}.

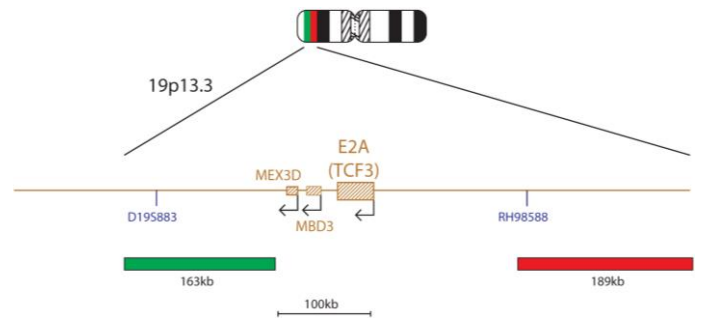
TCF3 kaks põhipartnerit on PBX1 (PBX homeojärjestus 1) asukohas 1q23.3 ja HLF (HLF transkriptsioonifaktor, PAR bZIP perekonnaliige) asukohas 17q22. Need sulanduvad TCF3-ga t(1;19)(q23;p13) ja t(17;19)(q22;p13) translokatsioonide tõttu, mis moodustavad vastavalt TCF3-PBX1 ja TCF3-HLF fusiooneeni. On leitud, et harvaesinev krüptiline inversioon inv(19)(p13;q13) sulandab TCF3 ja TFPT (TCF3 fusioonpartner), mis moodustab TCF3-TFPT fusiooneeni¹.

t(1;19)(q23;p13) on kõige sagedasem TCF3 ümberkorraldus, mida esineb 6% lapsee B-ALL-de korral^{1,2}. Vastavalt Maailma Terviseorganisatsiooni (WHO) müeloidsete kasvujate ja ägeda leukeemia klassifikatsioonile moodustab t(1;19)(q23;p13); TCF3-PBX1-ga B-lümfoblastne leukeemia (lümfoom tunnustatud haigusüksuse²). Funktsionaalne fusiooneen asub 19. kromosoomis. On teatatud translokatsiooni tasakaalustamata vormist der(1) kaoga^{1,2}. E2A-PBX1 fusiooni tuvastamine molekulaarsete meetoditega nagu FISH on oluline, kuna B-ALL-de alamliigil on karüotüüpiliselt identne t(1;19), kuid see ei hõlma TCF3 ega PBX1. E2A-PBX1 positiivset leukeemiat seostati ajalooliselt negatiivse tulemiga, kuid tänapäevased intensiivsed ravivõimalused lükkavad selle ümber^{1,2,4}.

t(17;19)(q22;p13) on harvaesinev translokatsioon, mis esineb ligikaudu 1% prekursor B-ALL juhtudest¹. TCF3-HLF positiivset leukeemiat seostatakse halva prognoosiga^{3,4}.

Sondi spetsifikatsioon

E2A, 19p13.3, punane
E2A, 19p13.3, roheline



E2A toode sisaldab 189 kb E2A (TCF3) geeni suhtes tsentromeerselt asuvat punasega märgistatudsondi, mis sisaldab markerit RH98588, ja 163 kb E2A geeni suhtes telomeerset piirkonda hõlmavat rohelist sondi, mis sisaldab markerit D19S883.

Tarnitavad materjalid

Sond 50 µl viali kohta (5 analüüsi) või 100 µl viali kohta (10 analüüsi)
Sondid tarnitakse hübriidseerimislahusega eelsegatuna (formamiid 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-fenüülnodool).

Hoiatused ja ettevaatusabinõud

1. *In vitro* diagnostiliseks kasutamiseks. Ainult erialaseks kasutamiseks.
2. DNA sondide ja DAPI vastandvärvide 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. Vabanee kõigist ohtlikest jätmetest oma asutuse ohtlike jätmete 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

Komplekti tuleks säilitada külmutatuna temperatuurivahemikus -25...-15 °C kuni kehtivusaja lõpuni, mis on esitatud toote etiketil. Sondi ja vastandvärvide vialide 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

DS077/CE-et v011.00/2020-12-01 (H020 v2)

Lk 1/4

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 soovitude lõiku)
6. Faasikontrastmikroskoop
7. Läbipaistvast plastist, keraamilised või kuumakindlast klaasist Coplini anumad
8. Pintsetid
9. Kalibreeritud pH-meeter (või pH indikaatorribad vahemikus pH 6,5–8,0)
10. Niiskuskamber
11. Fluorestsentsmikroskoobi immersioonõli
12. Tsentrifuug
13. Mikroskoobi alusklaasid
14. 24x24 mm katteklaidid
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 _{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 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 tööea 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 kohta⁵.

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. (**Valikuline, kui kasutatakse tsütogeneetilist kuivatuskambrit:** slaidid tuleks valmistada tsütogeneetilist kuivatuskambrit kasutades. Optimaalseks slaidi valmistamiseks tuleks kambrit kasutada temperatuuril ligikaudu 25 °C ja õhuniiskusel 50%. (Kui tsütogeneetiline kuivatuskamber ei ole kättesaadav, kasutage alternatiivina tömbekappi).
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. 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 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.

Hübriidsatsioon

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

Hübriidsatsioonijärgsed pesud

12. Eemaldage DAPI külmikust ja laske soojeneda toatemperatuurile.
13. Eemaldage ettevaatlikult katteklaidid ja kõik liimijärged.
14. Katke 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 hübriidiseerimistingimusi
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 hübriidiseerimine võib põhjustada täiendavaid või ootamatuid signaale
7. Kasutajad peaksid enne analüüsi kasutamist diagnostilisel eesmärgil protokoli oma proovidega optimeerima
8. Suboptimaalsed tingimused võivad põhjustada ebaspetsiifilist seondumist, mida võidakse ekslikult sondi signaalina tõlgendada

Tulemuste tõlgendamine

Slaidi kvaliteedi hindamine

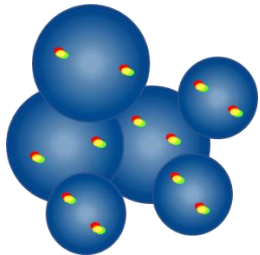
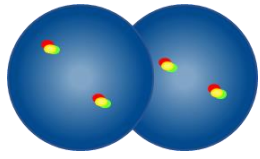
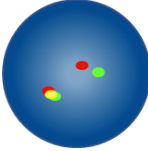
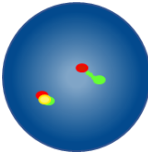
Slaidi ei tohiks analüüsida, kui

- signaalid on ühe filtriga analüüsimiseks liiga nõrgad – analüüsi jätkamiseks peaksid signaalid olema eredad, selged ja lihtsalt hinnatavad;
- liiga palju kokkuleppunud/kattuvaid rakke segavad analüüsimist;
- üle 50% rakkudest pole hübriidiseeritud;
- rakkude vahel on üleliigsed fluorestsentsosakesed ja/või fluorestsentshägud, mis segab signaali – optimaalsetel slaididel peaks taust tunduma tume või must ja puhas;
- rakutuuma piire ei saa eristada ja need pole terviklikud.

Analüüsi eeskirjad

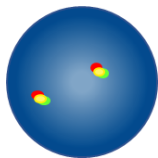
- Iga proovi peaks analüüsima ja tõlgendama kaks analüütikut. Kõik lahknemused tuleks lahendada koostava analüütiku hinnanguga
- Analüütikud peaksid olema riiklikult tunnustatud standardite kohase väljaõppega.
- Iga analüütik peaks hindama eraldi 100 tuuma iga proovi kohta. Esimene analüütik peaks alustama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

- Iga analüütik peaks oma tulemused üles märkima eraldi andmekandjale.
- Analüüside vaid terviklikke tuumi, mitte kattuvaid või kokkuleepunud või tsütoplasma jääkidega kaetud ega autofluoreseerivad tuumi.
- Väliste alasid, kus esineb liigseid tsütoplasma jääke või ebaspetsiifilist hübriidiseerimist.
- Signaali tugevus võib vahelduda, isegi ühe tuuma piires. Sellistel juhtudel kasutage üksikfiltreid 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 kahevärviise lahutatavate sondide analüüsimisel on punase ja rohelse signaali vahel tühimik väiksem kui kaks signaalipikkust, lugege see ümber korraldamata / sulandunud signaaliks
- Kui kahtlete, kas proov on analüüsimiseks sobiv, siis ärge analüüsi 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 fusioonisignaalina, kui punase ja rohelse signaali vaheline tühimik on kahest signaalipikkusest väiksem
	Lugeda kahe fusioonisignaalina, kui üks fusioonisignaali on difuusne

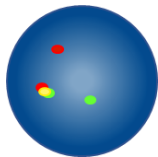
Eeldatavad tulemused

Eeldatav normaalne signaalimuster



Normaalse raku eeldatav tulemus on kaks punast/rohelist fusioonisignaali (2F).

Eeldatav ebanormaalne signaalimuster



Tasakaalustatud E2A (TCF3) ümberkorraldusega rakus on eeldatav signaalimuster üks punane, üks roheline ja üks fusioonisignaali (1P, 1R, 1F).

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 kõrvahäht (nt hilinenud või valediagnoos, hilinenud või ebasobiv ravi), tuleb sellest tootjat kohe teavitada (email: viigilance@oqt.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 toimivuskarakteristikud

Analüütiline spetsiifilisus

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

Tabel 1. Sondi E2A Breakapart Probe analüütiline spetsiifilisus

Sond	Sihtmärk-lockus	Oige lookusega hübriidiseeritud signaalide arv	Hübriidiseeritud signaalide koguarv	Spetsiifilisus (%)
Punane E2A	19p13	200	200	100
Roheline E2A	19p13	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. Sondi E2A Breakapart Probe analüütiline tundlikkus

Eeldatava signaalimustriga rakkude arv	Hinnatava signaaliga rakkude arv	Tundlikkus (%)	95% usaldusvahemik
386	400	96,5	1,7

Normaalse väljaarvamise piirväärtuste kirjeldus

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

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

Tabel 3. Sondi E2A Breakapart Probe normaalse väljaarvamise piirväärtuste kirjeldus

Ebanormaalne signaalimuster	Youdeni koefitsient	Normaalne väljaarvamise piir (%)
1P, 1R, 1F	0,99	6

Laborid peavad oma andmete põhjal väljaarvamise piirid kimitama^{6,7}.

Täpsus ja reprodutseeritavus

Täpsus on analüüsi loomulik varieeruvus korduvalt, samades tingimustes läbiviimisel. Seda hinnati, analüüsides sama partinumbriga sondi kordusanalüüse 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 sondi 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 arvutati eeldatava signaalimustriga rakkude protsent.

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

Tabel 4. Sondi E2A Breakapart Probe reprodutseeritavus ja täpsus

Muutuja	Standardhälve (SH)
Täpsus	0,19
Proov-prooviga	0,19
Päev-päevaga	0,38
Partii-partiiga	0,00
Hälve	0,30

Kliiniline toimivus

Kliiniline toimivus saavutati toote sihtgrupi esindusproovil. Iga proovi kohta salvestati ≥ 100 interfaasi raku signaalimustrid. Normaalne/ebanormaalne 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 ühemõttelise meetodiga.

Tabel 5. Sondid E2A Breakapart Probe kliiniline toimivus

Muutuja	Tulemus
Kliiniline tundlikkus (tõeselt positiivsete määr) (true positive rate, TPR)	100%
Kliiniline spetsiifilisus (tõeselt negatiivsete määr) (true negative rate, TNR)	99,8%
Valepositiivsete määr (false positive rate, FPR) = 1 – spetsiifilisus	0,2%

Lisateave

Lisateave saate kontakteerudes ettevõtte CytoCell tehnilise toe osakonnaga.

Tel: +44 (0)1223 294048




E-mail: techsupport@cytoce.com

W: www.ogt.com

Viited

1. Van der Burg *et al.*, Leukemia 2004;18(5):895-908
2. Swerdlow *et al.*, (eds.) WHO Classification of Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissue, Lyon, France, 4th edition, IARC, 2017
3. Mullighan, The Journal of Clinical Investigation 2012;122(10):3407-3415
4. Moorman *et al.*, Lancet Oncol Haematol. January 2012
5. Arsham, MS., Barch, M.J. and Lawce HJ. (eds.) (2017) *The AGT Cytogenetics Laboratory Manual*. New Jersey: John Wiley & Sons Inc.
6. 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.
7. Wiktor AE, Dyke DLV, Stupca PJ, Ketteling RP, Thorland EC, Shearer BM, Fink SR, Stockero KJ, Majorowicz JR, Dewald GW. *Preclinical validation of fluorescence in situ hybridization assays for clinical practice*. Genetics in Medicine. 2006;8(1):16-23.

Sümbolite seletus

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

Patendid ja kaubamärgid

CytoCell on CytoCell Ltd registreeritud kaubamärk.



CytoCell Ltd.

Oxford Gene Technology,
418 Cambridge Science Park,
Milton Road,

Cambridge, CB4 0PZ, UK

Tel: +44(0)1223 294048

Faks: +44(0)1223 294986

E-mail: probes@cytoce.com

W: www.ogt.com