



A Sismex Group Company



Lietošanas instrukcijas

ATS.: LPH 019-S/LPH 019

## E2A (TCF3) Breakapart Probe



TIKAI PROFESIONĀLAM LIETOJUMAM



www.cytocell.com

Papildinformācija un informācija citās valodās ir pieejama vietnē  
www.ogt.com

### Ierobežojumi

Šo ierīci ir paredzēts izmantot, lai noteiktu pārkārtojumus ar pārtraukumpunktiem reģionā, ko ietver sarkanie un zaļie kloni šajā zonžu komplektā, kurā ietilpst reģions E2A (TCF3). Izmantojot šo produktu, var netikt noteikti pārtraukumpunkti ārpus šī reģiona vai pārkārtojumu varianti, kas pilnībā ietilpst šajā reģionā.

Šis tests nav paredzēts: izmantošanai autonoma diagnostikas līdzekļa statusā, prenatalai testēšanai, konkrētu populāciju skrīningam, testēšanai ārpus laboratorijas un paštestēšanai. Šis produkts ir paredzēts tikai profesionālai lietošanai laboratorijās; visu rezultātu interpretēšana jāveic atbilstoši kvalificētiem darbiniekiem, ņemot vērā citu attiecīgo testu rezultātus.

Šis produkts nav apstiprināts lietošanai tādu tipu paraugiem vai slimībām, kas nav norādīti informācijā par paredzēto lietojumu.

Ziņošana par fluorescētās in situ hibridizācijas (FISH) rezultātiem un to interpretēšana ir jāveic atbilstoši profesionālajiem prakses standartiem, un ir jāņem vērā cita klīniskā un diagnostikas informācija. Šis komplekts ir paredzēts kā citu diagnostisko laboratorijas testu palīg līdzeklis, un lēmumus par terapiju nedrīkst pieņemt, vadoties tikai pēc fluorescētās in situ hibridizācijas (FISH) rezultātiem. Neievērojot attiecīgo protokolu, var tikt ietekmēta veikspēja un iegūti aplami pozitīvi vai aplami negatīvi rezultāti.

Šis komplekts nav apstiprināts izmantošanai nolūkiem, kas neatbilst norādītajam paredzētajam lietojumam.

### Paredzētais lietojums

CytoCell E2A (TCF3) Breakapart Probe ir kvalitatīvs, neautomatizēts fluorescētās in situ hibridizācijas (fluorescence in situ hybridisation — FISH) tests, kas paredzēts hromosomālo pārkārtojumu noteikšanai 19. hromosomas reģionā 19p13.3 Karnuā šķīdumā (3:1 metanols/etiķskābe) fiksētās hematoloģiski iegūtās šūnu suspensijās no pacientiem, kuriem ir konstatēta akūta limfoblastiskā leikēmija (lymphoblastic leukaemia — ALL) vai pastāv aizdomas par tās esamību.

### Indikācijas

Šis produkts ir paredzēts kā citu klīnisko un histopatoloģisko testu papildinājums atzītās diagnostikas un klīniskās aprūpes metodēs, kad informācija par E2A (TCF3) pārkārtojuma statusu ir svarīga klīniskajai pārvaldībai.

### Testa principi

Fluorescētā in situ hibridizācija (fluorescence in situ hybridisation — FISH) ir metode, kas ļauj noteikt DNA sekvences metafāžu hromosomās vai interfāzes kodolos fiksētiem citoģenētiskiem paraugiem. Šajā metodē tiek izmantotas DNA zondes, kas hibridizējas ar vesellām hromosomām vai atsevišķām unikālām sekvencēm un kalpo kā efektīvs G-joslu citoģenētiskās analīzes palīg līdzeklis. Šo metodi tagad var lietot kā būtisku izmeklēšanas instrumentu prenatalajā, hematoloģiskajā un šķīdumu audzēju hromosomālajā analīzē. Mērķa DNA pēc fiksācijas un denaturēšanas ir pieejama hibridizācijai ar līdzīgi denaturētu, fluorescējošu marķētu DNA zondi, kurai ir papildu sekvence. Pēc hibridizācijas nesaisītā un nespecifiski saistītā DNA zonde tiek aizvākta un DNA tiek kontrastēta vizualizācijai. Pēc tam, izmantojot fluorescences mikroskopiju, hibridizēto zondi var vizualizēt mērķa materiālā.

### Informācija par zondi

Gēna TCF3 (*transkripcijas faktors 3*) atrašanās vieta ir 19p13.3. Translokācijas, kurās iesaistīts TCF3, ir dažas no visbiežāk sastopamajiem pārkārtojumiem B šūnu akūtas limfoblastiskās leikēmijas (ALL) gadījumos pediatrikajiem pacientiem<sup>1,2</sup>.

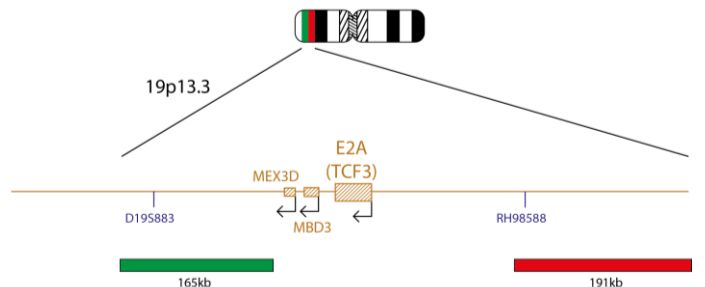
Divi no galvenajiem TCF3 partneriem ir PBX1 (*PBX homeobokss 1*), kura atrašanās vieta ir 1q23.3, un HLF (*HLF transkripcijas faktors, PAR bZIP saimes loceklis*), kura atrašanās vieta ir 17q22. t(1;19)(q23;p13) un t(17;19)(q22;p13) translokāciju rezultātā notiek to fūzija ar TCF3, attiecīgi veidojot fūzijas gēnus TCF3-PBX1 un TCF3- HLF. Ir ziņots, ka reta kriptiska inversija inv(19)(p13;q13) izraisa TCF3 fūziju ar TFPT (*TCF3 fūzijas partneris*), kā rezultātā rodas TCF3-TFPT fūzijas gēns<sup>1</sup>.

t(17;19)(q23;p13) ir visbiežāk sastopamais TCF3 pārkārtojums, kas pediatrikajiem pacientiem konstatējams aptuveni 6% B-ALL gadījumu<sup>1,2</sup>. Atbilstoši Pasaules Veselības Organizācijas (PVO) mieloīdo neoplazmu un akūtas leikēmijas klasifikācijai B-limfoblastiskā leikēmija/limfoma ar t(1;19)(q23;p13); TCF3-PBX1 tiek uzskatīta par atsevišķu nozoloģisko vienību<sup>2</sup>. Funkcionālais fūzijas gēns atrodas 19. hromosomā. Ir ziņots par šīs translokācijas nelīdzsvarotu formu ar der(1) zudumu<sup>1,2</sup>. E2A-PBX1 fūzijas noteikšana, izmantojot molekulāras metodes, piemēram, FISH, ir svarīga, jo B-ALL apakškopai ir kariotipiski identisks t(1;19), kurā nav iesaistīts TCF3 un PBX1. E2A-PBX1 pozitīva leikēmija vēsturiski tika saistīta ar nelabvēlīgu iznākumu, bet modernās intensīvās terapijas to ir ļāvušas pārvarēt<sup>1,2,4</sup>.

t(17;19)(q22;p13.) ir reti sastopama translokācija, kas ir konstatējama aptuveni 1% prekursora B-ALL gadījumu<sup>1</sup>. TCF3-HLF pozitīva leikēmija ir saistīta ar nelabvēlīgu prognozi<sup>3,4</sup>.

### Zondes specifika

E2A, 19p13.3, sarkana  
E2A, 19p13.3, zaļa



E2A produktu veido 191 kb zonde, kas marķēta sarkanā krāsā un atrodas centromēriski attiecībā pret E2A (TCF3) gēnu, ietverot RH98588 marķieri, un zaļa zonde, kas nosedz 165 kb reģionu telomēriski attiecībā pret E2A gēnu, ietverot D19S883 marķieri.

### Nodrošinātie materiāli

**Zonde:** 50 µl flakonā (5 testi) vai 100 µl flakonā (10 testi)

Zondes tiek nodrošinātas iepriekš samaisītā veidā hibridizācijas šķīdumā (formamīds; dekstrāna sulfāts; citrāta fizioloģiskais šķīdums (salīne-sodium citrate — SSC)) un ir gatavas lietošanai.

**Kontrasta krāsviela:** 150 µl flakonā (15 testi)

Kontrasta krāsviela ir DAPI luminiscences uzturēšanas šķīdums (ES: 0,125 µg/ml DAPI (4,6-diamidīno-2-fenilindols)).

### Brīdinājumi un piesardzības pasākumi

1. Lietošanai *in vitro* diagnostikā. Tikai profesionālai lietošanai.
2. Apejoties ar DNA zondēm un DAPI kontrasta krāsvielu, valkājiet cimdus.
3. Zondes maisījumos ietilpst formamīds, kas ir teratogēns, tādēļ nedrīkst pieļaut to izgarojumu ieelpošanu un nonākšanu saskarē ar ādu. Rīkojieties ar to piesardzīgi; valkājiet cimdus un laboratorijas virsvalku.
4. DAPI ir potenciāli kancerogēna viela. Rīkojieties ar to piesardzīgi; valkājiet cimdus un laboratorijas virsvalku.
5. Atbrīvojieties no visām bīstamajām vielām atbilstoši jūsu iestādē spēkā esošajam vadlīnijam attiecībā uz bīstamu atkritumu utilizāciju.
6. Operatoriem jāspēj atšķirt sarkano, zilo un zaļo krāsu.
7. Neievērojot norādīto protokolu un norādījumus par reaģentiem, var tikt ietekmēta veikspēja un iegūti aplami pozitīvi vai aplami negatīvi rezultāti.
8. Zondi nedrīkst atšķaidīt vai veidot maisījumus ar citām zondēm.
9. Ja protokola priekšdenaturēšanas fāzes laikā netiek izmantoti 10 µl zondes, var tikt ietekmēta veikspēja un iegūti aplami pozitīvi vai aplami negatīvi rezultāti.

### Uzglabāšana un apiešanās

Aquarius® komplekts ir jāuzglabā saldētavā, temperatūras diapazonā no -25 °C līdz -15 °C, līdz pat derīguma termiņa beigu datumam, kas norādīts uz komplekta marķējuma etiķetes. Zondes kontrasta krāsvielas flakoni ir jāuzglabā tumsā.



Zonde saglabājas stabila normālas lietošanas gaitā notiekošajos sasaldēšanas/atkausēšanas ciklos (vienu ciklu veido zondes izņemšana no saldētavas un ievietošana atpakaļ saldētavā) un ir fotostabila līdz pat 48 stundām pēc nonākšanas pastāvīgā apgaismojumā. Ir jādara viss iespējams, lai ierobežotu gaismas un temperatūras svārstību ietekmi.

#### Aprikojums un materiāli, kas ir nepieciešami, bet nav iekļauti komplektācijā

- Ir jāizmanto kalibrēts aprikojums.
1. Sildierīce (ar cietu sildvirsmu un precīzu temperatūras regulēšanu līdz pat 80 °C)
  2. Kalibrētas dažāda tilpuma mikropipetes un uzgaļi 1–200 µl diapazonā.
  3. Ūdens vannā ar precīzu temperatūras regulēšanu 37 °C un 72 °C
  4. Mikrocentrifūgas mēģenes (0,5 ml)
  5. Fluorescences mikroskops (sk. sadaļu Uz fluorescences mikroskopa attiecināmie ieteikumi)
  6. Fāžu kontrasta mikroskops
  7. Tīri plastmasas, keramikas vai karstumizturīga stikla Koplina trauki
  8. Pincete
  9. Kalibrēta pH mērierīce (vai pH indikatora strēmeles, ar kurām var veikt mērījumus pH 6,5–8,0 diapazonā)
  10. Konteiners ar mitru vidi
  11. Fluorescencei atbilstoša mikroskopa objektīva iegremdēšanas eļļa
  12. Galda centrifūga
  13. Mikroskopa priekšmetstikliņi
  14. 24x24 mm segstikliņi
  15. Taimeris
  16. 37 °C inkubators
  17. Gumijas līme
  18. Virpuļmaisītājs
  19. Mērcilindri
  20. Magnētiskais maisītājs
  21. Kalibrēts termometrs

#### Papildaprīkojums, kas nav ietverts komplektācijā

1. Citoģenētiskā žāvēšanas kamera

#### Nepieciešamie reaģenti, kas nav ietverti komplektācijā

1. 20x citrātā fizioloģiskais šķīdums (saline-sodium citrate — SSC)
2. 100% etanols
3. Tween-20
4. 1M nātrija hidroksīds (NaOH)
5. 1M sālsskābe (HCl)
6. Attīrīts ūdens

#### Uz fluorescences mikroskopa attiecināmie ieteikumi

Lai nodrošinātu optimālu vizualizāciju, izmantojiet 100 W dzīvsudraba spuldzi vai ekvivalentu gaismas avotu un eļļā iegremdējamus 60/63x vai 100x objektīvus. Šajā zonzu komplektā izmantotie fluorofori tiks ierosināti un izstaros tālāk norādītā garuma viļņos.

Fluorofors	Ierosme <sub>max</sub> [nm]	Izstarošanas <sub>max</sub> [nm]
Zaļš	495	521
Sarkans	596	615

Nodrošiniet, lai mikroskops būtu aprīkots ar iepriekš norādītajiem viļņa garumiem atbilstošiem ierosmes un izstarošanas filtriem. Lai nodrošinātu optimālu zaļo un sarkano fluoroforu vienlaicīgu vizualizāciju, izmantojiet trīsjoslu DAPI/zaļā spektra/sarkanā spektra filtru vai divjoslu zaļā spektra/sarkanā spektra filtru.

Pirms lietošanas pārbaudiet fluorescences mikroskopa, lai pārliecinātos, vai tas darbojas pareizi. Izmantojiet iegremdēšanas eļļu, kas piemērota fluorescences mikroskopijai un nodrošina zemu autofluorescences līmeni. Izvairieties no DAPI luminiscences uzturēšanas šķīduma sajaukšanās ar mikroskopa iegremdēšanas eļļu, jo pretējā gadījumā radīsies signāla traucējumi. Rīkojieties atbilstoši ražotāja ieteikumiem attiecībā uz lampas un filtru kalpošanas ilgumu.

#### Paraugu sagatavošana

Šis komplekts ir paredzēts izmantošanai ar hematoloģiski iegūtām šūnu suspensijām, kas fiksētas Karnuā šķīduma (3:1 metanols/etiķskābe) fiksatorā un ir sagatavotas atbilstoši laboratorijā vai iestādē spēkā esošajam vadlīnijām. Sagatavojiet gaisā nožāvētus paraugus uz mikroskopa priekšmetstikliņiem atbilstoši standarta citoģenētiskajam procedūram. AGT *citoģenētikas laboratorijas rokasgrāmata* ir ietverti ieteikumi par paraugu ņemšanu, kultūrēšanu, ievākšanu un priekšmetstikliņu sagatavošanu<sup>2</sup>.

#### Šķīdumu sagatavošana

##### Etanola šķīdumi

Atšķaidiet 100% etanolu ar attīrītu ūdeni atbilstoši tālāk norādītajām proporcijām un rūpīgi samaisiet.

- 70% etanols — 7 daļas 100% etanola un 3 daļas attīrīta ūdens
- 85% etanols — 8,5 daļas 100% etanola un 1,5 daļas attīrīta ūdens

Glabājiet šķīdumus līdz pat 6 mēnešiem istabas temperatūrā hermētiski noslēdzamā konteinerā.

##### 2xSSC šķīdums

Atšķaidiet 1 daļu 20xSSC šķīduma ar 9 daļām attīrīta ūdens un rūpīgi samaisiet. Pārbaudiet pH līmeni un nodrošiniet, lai tā pH būtu 7,0, pēc nepieciešamības izmantojot NaOH vai HCl. Uzglabājiet šķīdumu līdz pat 4 nedēļu ilgumā istabas temperatūrā hermētiski noslēdzamā konteinerā.

##### 0,4xSSC šķīdums

Atšķaidiet 1 daļu 20xSSC šķīduma ar 49 daļām attīrīta ūdens un rūpīgi samaisiet. Pārbaudiet pH līmeni un nodrošiniet, lai tā pH būtu 7,0, pēc nepieciešamības izmantojot NaOH vai HCl. Uzglabājiet šķīdumu līdz pat 4 nedēļu ilgumā istabas temperatūrā hermētiski noslēdzamā konteinerā.

##### 2xSSC, 0,05% Tween-20 šķīdums

Atšķaidiet 1 daļu 20xSSC šķīduma ar 9 daļām attīrīta ūdens. Pievienojiet 5 µl Tween-20 uz 10 ml un rūpīgi samaisiet. Pārbaudiet pH līmeni un nodrošiniet, lai tā pH būtu 7,0, pēc nepieciešamības izmantojot NaOH vai HCl. Uzglabājiet šķīdumu līdz pat 4 nedēļu ilgumā istabas temperatūrā hermētiski noslēdzamā konteinerā.

#### Fluorescentās in situ hibridizācijas (FISH) protokols

(Piezīme. Nodrošiniet, lai zonde un kontrasta krāsviela pēc iespējas mazāk tiktu pakļauta laboratorijas apgaismojuma iedarbībai.)

##### Priekšmetstikliņa sagatavošana

1. Novietojiet šūnu paraugu uz mikroskopa priekšmetstikliņa, kas izgatavots no stikla. Ļaujiet nožūt. (**Pēc izvēles, ja tiek izmantota citoģenētiskā žāvēšanas kamera:** priekšmetstikliņu sagatavošanai jāizmanto citoģenētiskā žāvēšanas kamera. Lai nodrošinātu optimālu šūnu parauga sagatavošanu, kamera jādarbina, iestatot aptuveni 25 °C temperatūru un 50% mitruma. Ja citoģenētiskā žāvēšanas kamera nav pieejama, kā alternatīvu var izmantot gāzu nosūcēju).
2. Iegremdējiet priekšmetstikliņu 2xSSC šķīdumā istabas temperatūrā uz 2 minūtēm, neveicot maisīšanu.
3. Veiciet dehidrēšanas etanolā sērijas (70%, 85% un 100%), katru 2 minūtes istabas temperatūrā.
4. Ļaujiet nožūt.

##### Priekšdenaturēšana

5. Izņemiet zondi no saldētavas un ļaujiet tai sasilt līdz istabas temperatūrai. Pirms mēģeņu lietošanas brīdī tās centrifugējiet.
6. Izmantojot pipeti, pārliecinieties, vai zondes šķīdums ir viendabīgi samaisīts.
7. Paņemiet 10 µl zondes šķīduma katram testam un pārnesiet to uz mikrocentrifūgas mēģeni. Atlikušo zondes šķīdumu nekavējoties ievietojiet atpakaļ saldētavā.
8. Novietojiet zondi un parauga priekšmetstikliņu uz sildierīces un veiciet priekšsildīšanu 37 °C (+/- 1 °C) temperatūrā 5 minūtes.
9. Uzlieciet 10 µl zondes maisījuma uz šūnu parauga un rūpīgi uzlieciet segstikliņu. Hermetizējiet ar gumijas līmi un ļaujiet līmei pilnībā nožūt.

##### Denaturēšana

10. Veiciet parauga un zondes vienlaicīgu denaturēšanu, sildot priekšmetstikliņu uz sildierīces 75 °C (+/- 1 °C) temperatūrā 2 minūtes.

##### Hibridizācija

11. Ievietojiet priekšmetstikliņu gaismu necaurlaidīgā konteinerā ar mitru vidi un atstājiet to 37 °C (+/- 1 °C) temperatūrā līdz nākamajai dienai.

##### Skalošana pēc hibridizācijas

12. Izņemiet DAPI no saldētavas un ļaujiet tam sasilt līdz istabas temperatūrai.
13. Noņemiet segstikliņu un rūpīgi notīriet visas līmes atliekas.
14. Iegremdējiet priekšmetstikliņu 0,4xSSC (pH 7,0) 72 °C (+/- 1 °C) temperatūrā uz 2 minūtēm nemaisot.
15. Noteciniet šķidrums no priekšmetstikliņa un iegremdējiet to 2xSSC, 0,05% Tween-20 šķīdumā istabas temperatūrā (pH 7,0) uz 30 sekundēm nemaisot.
16. Noteciniet šķidrums no priekšmetstikliņa un katram paraugam pievienojiet 10 µl DAPI luminiscences uzturēšanas līdzekli.
17. Uzlieciet segstikliņu, likvidējiet burbuļus un ļaujiet krāsai tumsā attīstīties 10 minūtes.
18. Skatiet fluorescences mikroskopā (sk. **Uz fluorescences mikroskopa attiecināmie ieteikumi**).

##### Sagatavoto priekšmetstikliņu stabilitāte

Sagatavotie priekšmetstikliņi ir stabilizējami 1 mēneša periodā, ja tiek glabāti tumsā un istabas temperatūrā vai par izstabzotiem zemākā temperatūrā.

##### Ieteikumi attiecībā uz procedūru

1. Priekšmetstikliņu karsēšana vai novecošana var samazināt signāla fluorescenci.
2. Tādu reaģentu izmantošana, kas nav uzņēmuma CytoCELL Ltd. nodrošinātie vai ieteiktie reaģenti, var nelabvēlīgi ietekmēt hibridizācijas apstākļus.
3. Šķīdumu, ūdens vannu un inkubatoru temperatūras mērīšanai jāizmanto kalibrēts termometrs, jo norādītās temperatūras ievērošana ir kritiski svarīga produkta optimālas veiktspējas nodrošināšanai.
4. Skalošanas šķīdumu koncentrācijas, pH vērtības un temperatūras vērtības ir svarīgas, jo pārāk lielas pielaišanas gadījumā iespējama nespecifiska sasaiste, savukārt pārāk mazas pielaišanas gadījumā iespējama signāla nepietiekamība.
5. Nepilnīga denaturēšana var izraisīt signāla nepietiekamību, savukārt pārmērīga denaturēšana arī var izraisīt nespecifisku sasaisti.
6. Pārmērīga hibridizācijas dēļ iespējami papildu vai neparedzēti signāli.
7. Pirms testa izmantošanas diagnostikas nolūkiem lietotajiem ir jāveic protokola optimizācija atbilstoši saviem paraugiem.
8. Ja apstākļi nav pietiekami optimāli, iespējama nespecifiska sasaiste, kas var tikt nepareizi interpretēta kā zondes signāls.

##### Rezultātu interpretēšana

##### Sagatavotā priekšmetstikliņa ar paraugu kvalitātes novērtēšana

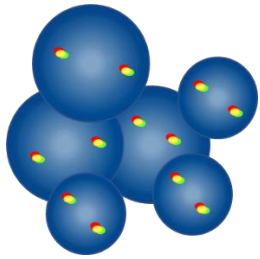
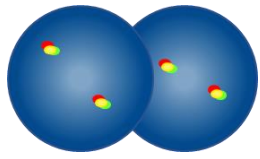
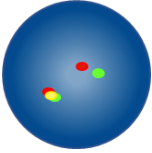
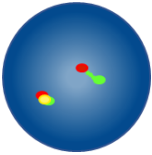
Paraugu nedrīkst analizēt tālāk norādītajos gadījumos.

- Signāli ir pārāk vāji analizēšanai atsevišķos filtros — lai veiktu analīzi, signāliem jābūt spilgtiem, labi izšķiramiem un viegli novērtējamiem.

- Ir daudz salīpušu/pārkļājošos šūnu, kas traucē veikt analīzi.
- >50% šūnu nav hibridizētas.
- Starp šūnām atrodas pārāk daudz fluorescējošu daļiņu un/vai fluorescējošs aizmiglojums, kas rada signāla traucējumus, — optimālā priekšmetstiklīnā ar paraugu fonam jābūt tumšam vai melnam un tīram.
- Šūnu kodolu robežas nav izšķiramas un nav veselas.

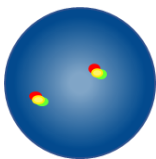
#### Uz analīzi attiecināmās vadlīnijas

- Katra parauga analīzi un interpretēšanu ir jāveic diviem laboratorijas speciālistiem. Visas neatbilstības ir jānovērš, novērtēšanu veicot trešajam laboratorijas speciālistam.
- Katram laboratorijas speciālistam jābūt attiecīgi kvalificētam atbilstoši spēkā esošajiem valsts līmeņa standartiem.
- Katram laboratorijas speciālistam neatkarīgi jāveic novērtēšana 100 kodoliem no katra parauga. Pirmajam laboratorijas speciālistam jāšāk analīze no priekšmetstiklīņa kreisās puses, savukārt otram laboratorijas speciālistam — no priekšmetstiklīņa labās puses.
- Katram laboratorijas speciālistam jādokumentē savi rezultāti atsevišķās lapās.
- Ir jāanalizē tikai veseli kodoli, nevis pārkļājošie kodoli, sablīvējušies kodoli vai kodoli, kurus sedz citoplazmatiskās atliekas vai augsta līmeņa autofluorescence.
- Jāizvairās no zonām ar pārmērīgu citoplazmatisko atlieku apjomu vai nespecifisku hibridizāciju.
- Signāla intensitāte var būt mainīga, pat vienā kodolā. Šādos gadījumos izmantojiet atsevišķus filtrus un/vai pielāgojiet fokālo plakni.
- Ja apstākļi nav pietiekami optimāli, signāli var šķīst izkliedēti. Ja divi vienādas krāsas signāli savstarpēji saskaras vai attālums starp tiem nepārsniedz divus signāla platumus, vai arī abus signālus savieno tikko redzams pavediens, šie signāli ir uzskatāmi par vienu signālu.
- Analizējot divkrāsu sadalīšanās zondes, ja attālums starp sarkano un zaļo signālu nepārsniedz divus signāla platumus, signāls ir uzskatāms par nepārkārtotu/saplūdušu signālu.
- Ja pastāv šaubas, vai šūna ir analizējama, neveiciet tās analīzi.

Uz analīzi attiecināmās vadlīnijas	
	Neskaitīt — kodoli atrodas pārāk tuvu viens otram, lai varētu noteikt to robežas
	Neskaitīt pārkļājošos kodolus — nav redzamas visas abu kodolu zonas
	Skaitīt kā divus fūzijas signālus — atstarpe starp sarkano un zaļo signālu ir mazāka nekā divi signāla platumi
	Skaitīt kā divus fūzijas signālus — viens fūzijas signāls ir difūzs

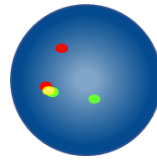
#### Paredzamie rezultāti

Paredzamais normālu signālu modelis



Normālā šūnā ir paredzami divi sarkani/zaļi fūzijas signāli (2F).

Paredzamais anormālo signālu modelis



Šūnā ar līdzsvarotu E2A (TCF3) pārkārtojumu paredzamais signālu modelis ir viens sarkans, viens zaļš signāls un viena fūzija (1S, 1Z, 1F).

Citi signālu modeļi ir iespējami aneiploīdos/helīdzsvarotos paraugos.

#### Zināmā krusteniskā reaktivitāte

Nav zināmas krusteniskās reaktivitātes.

#### Ziņošana par nevēlamiem notikumiem

Ja uzskatāt, ka ir radušies šīs ierīces darbības traucējumi vai tās veikspējas rādītāji ir pasliktinājušies, iespējami izraisot nevēlamu notikumu (piem., novēlotu vai nepareizu diagnozi, novēlotu vai nepiemērotu terapiju), par to nekavējoties jāziņo ražotājam (**e-pasta adrese**: [vigilance@ogt.com](mailto:vigilance@ogt.com)).

Ja attiecināms, par šādu notikumu ir jāziņo arī kompetentajai iestādei jūsu valstī. Vigīlances kontaktinformācijas saraksts ir atrodams šeit: <http://ec.europa.eu/growth/sectors/medical-devices/contacts/>.

#### Specifiskās veikspējas raksturlielumi

##### Analītiskais specifiskums

Analītiskais specifiskums tiek izteikts kā to signālu procentuālā vērtība, kas hibridizējas ar pareizo lokusu un nekādu citu vietu. Analītiskais specifiskums tika noteikts, veicot 200 mērķa lokusu analīzi. Analītiskais specifiskums tika aprēķināts kā tādu FISH signālu skaits, kas hibridizējās uz pareizo lokusu, dalīts ar hibridizēto FISH signālu kopējo skaitu.

1. tabula. Zondes E2A Breakapart Probe analītiskais specifiskums

Zonde	Mērķa lokuss	Ar pareizo lokusu hibridizēto signālu skaits	Hibridizēto signālu kopskaits	Specifiskums (%)
Sarkans E2A	19p13	200	200	100
Zaļš E2A	19p13	200	200	100

##### Analītiskais jutīgums

Analītiskais jutīgums tiek izteikts kā novērtējamo interfāzes šūnu ar paredzamu normālo signālu modeli procentuālā vērtība. Analītiskais jutīgums tika noteikts, analizējot interfāzes šūnas dažādos normālos paraugos. Jutīgums tika aprēķināts kā novērtējamo šūnu ar paredzamo signālu modeli procentuālā vērtība (ar 95% ticamības intervālu).

2. tabula. E2A Breakapart Probe analītiskais jutīgums

Šūnu ar paredzamiem signālu modeļiem skaits	Šūnu ar novērtējamiem signāliem skaits	Jutīgums (%)	95% ticamības intervāls
386	400	96,5	1,7

##### Normalitātes robežvērtību raksturojums

Uz fluorescētās in situ hibridizācijas (FISH) zondēm attiecināmā normalitātes robežvērtība ir novērtējamo interfāzes šūnu ar specifisku anormālo signālu modeli, ar kādu paraugs ir uzskatāms par normālu attiecībā uz šādu signālu modeli, maksimālā procentuālā vērtība.

Normalitātes robežvērtība tika noteikta, izmantojot paraugus no normāliem un pozitīviem pacientiem. Katram paraugam tika reģistrēti 100 šūnu signālu modeļi. Tika aprēķināts Jūdena indekss, lai noteiktu robežvērtību, kurai ir maksimizēts jutīgums + specifiskums -1.

3. tabula. E2A Breakapart Probe normalitātes robežvērtību raksturojums

Anomālu signālu modelis	Jūdena indekss	Normalitātes robežvērtība (%)
1S, 1Z, 1F	0,99	6

Laboratorijām nepieciešams robežvērtības verificēt, izmantojot pašām savus datus<sup>6,7</sup>.

##### Precizitāte un reproducējamība

Precizitāte ir testa dabīgo atšķirību rādītājs, testu atkārtotot vairākas reizes vienādos apstākļos. Šis rādītājs tika noteikts, analizējot atkārtotu viena parauga testēšanu ar zondēm no vienas partijas, vienādos apstākļos un vienā dienā.

Reproducējamība ir testa variabilitātes rādītājs un ir noteikta, ņemot vērā paraugu līmeņa, dienas līmeņa un partijas līmeņa variabilitāti. Dienas līmeņa reproducējamība tika noteikta, analizējot vienus un tos pašus paraugus trīs dažādās dienās. Partijas līmeņa reproducējamība tika noteikta, vienā dienā analizējot vienus un tos pašus paraugus un izmantojot zondes no trīs dažādām partijām. Paraugu līmeņa reproducējamība tika noteikta, analizējot trīs parauga replikākus vienā dienā. Katram paraugam tika reģistrēti 100 interfāzes šūnu signālu modeļi un tika aprēķināta šūnu ar paredzamo signālu modeli procentuālā vērtība.

DS077/CE-lv v012.00/2023-02-21 (H020 v3)

Reproducējamība un precizitāte tika aprēķinātas kā standartnovirze (Standard Deviation — STDEV) starp replikātiem katram mainīgajam, kā arī vispārēja vidēja STDEV.

4. tabula. E2A Breakapart Probe reproducējamība un precizitāte

Mainīgais	Standartnovirze (STDEV)
Precizitāte	0,19
Paraugu līmeņa	0,19
Dienas līmeņa	0,38
Partijas līmeņa	0,00
Vispārīgā novirze	0,30

**Klīniskā veiktspēja**

Klīniskā veiktspēja tika noteikta, izmantojot produkta paredzēto populāciju reprezentējošu paraugu. Katram paraugam tika reģistrēti  $\geq 100$  interfāzes šūnu signālu modeļi. Normalitāte/anormalitāte tika noteikta, salīdzinot šūnu ar specifisku anormālo signālu modeli procentuālo vērtību ar normalitātes robežvērtību. Rezultāti pēc tam tika salīdzināti ar zināmo parauga statusu.

Klīnisko datu rezultāti tika analizēti, lai iegūtu jutīguma, specifiskuma un normalitātes vērtības, izmantojot viendimensionālu pieeju.

5. tabula. E2A Breakapart Probe klīniskā veiktspēja

Mainīgais	Rezultāts
Klīniskais jutīgums (patiesi pozitīvo rezultātu rādītājs (true positive rate — TPR))	100%
Klīniskais specifiskums (patiesi negatīvo rezultātu rādītājs (true negative rate — TNR))	99,8%
Aplami pozitīvo rezultātu rādītājs (false positive rate — FPR) = 1 – specifiskums	0,2%

**Papildinformācija**

Lai saņemtu papildinformāciju par produktu, lūdzu, sazinieties ar CytoCell

tehniskā atbalsta nodaļu.

**Tālr.:** +44 (0)1223 294048










**E-pasts:** techsupport@cytoCELL.com

**Timeklis:** www.ogt.com

**Atsauces**

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, MJ. 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, 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.

**Simbolu skaidrojums**

<b>REF</b>	Iv: Kataloga numurs
	Iv: <i>In vitro</i> diagnostikas medicīniskā ierīce
	Iv: Partijas kods
	Iv: Skatīt lietošanas instrukcijas
	Iv: Ražotājs
	Iv: Derīguma termiņš
	Iv: Temperatūras ierobežojums
	Iv: Sargāt no saules gaismas
	Iv: Saturs ir pietiekams <n> testiem
	Iv: Saturs

**Patenti un preču zīmes**

CytoCell ir reģistrēta CytoCELL Ltd. preču zīme.



**CytoCELL Ltd.**

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

Cambridge, CB4 0PZ, Apvienotā Karaliste

**Tālr.:** +44(0)1223 294048

**Fakss:** +44(0)1223 294986

**E-pasts:** probes@cytoCELL.com

**Timeklis:** www.ogt.com