



A Sysmex Group Company



Lietošanas instrukcija

REF: LPH 025-S/LPH 025

Zonde Del (7q) Deletion Probe



TIKAI PROFESIONĀLAM LIETOJUMAM



www.cytocell.com

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

Ierobežojumi

Šī ierīce ir paredzēta tādu genomisko zudumu noteikšanai, kuru lielums pārsniedz reģionus, ko nosedz sarkanie un zaļie kloni šajā zonžu komplektā, kuros ietilpst reģioni 7q22 un 7q31.2. Izmantojot šo produktu, var netikt noteikti genomiskie zudumi ārpus šī reģiona vai daļēji šī reģiona zudumi.

Šis tests nav paredzēts: izmantošanai autonoma diagnostikas līdzekļa statusā, prenatalālai 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 attiecināmo testu rezultātus.

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

Ziņošana par luminiscētās in situ hibridizācijas 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 luminiscētās in situ hibridizācijas rezultātiem.

Neievērojot attiecīgo protokolu, var tikt ietekmēta veikspēja un iegūti kļūdaini pozitīvi vai kļūdaini negatīvi rezultāti.

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

Paredzētais lietojums

Zonde CytoCell Del (7q) Deletion Probe ir kvalitatīvs, neautomatizēts luminiscētās in situ hibridizācijas (fluorescence in situ hybridisation — FISH) tests, kas paredzēts hromosomālo pārkārtojumu noteikšanai 7. hromosomas reģionos 7q22 un 7q31.2 Karnuā šķīdumā (3:1 metanols/etiķskābe) fiksētās hematoloģiski iegūtās šūnu suspensijās no pacientiem, kuriem ir konstatēta akūta mieloida leikēmija (AML) vai mielodisplastiskais sindroms (MDS) vai arī pastāv aizdomas par tā esamību.

Indikācijas

Šis produkts ir paredzēts kā citu klīnisko un histopatoloģisko testu papildinājums atzītās diagnostikas un klīniskās aprūpes metodēs, kad informācija par 7q delēcijas statusu ir svarīga klīniskajai pārvaldībai.

Testa principi

Luminiscētā in situ hibridizācija (Fluorescence in situ hybridisation — FISH) ir metode, kas ļauj noteikt DNS sekvenču metafāžu hromosomās vai interfāzes kodolos fiksētiem citogēniskiem paraugiem. Šajā metodē tiek izmantotas DNS zondes, kas hibridizējas ar veselām hromosomām vai atsevišķām unikālām sekvencēm un kalpo kā efektīvs G joslu citogēniskās analīzes palīg līdzeklis. Šo metodi tagad var lietot kā būtisku izmeklēšanas instrumentu prenatalajā, hematoloģiskajā un solidu audzēju hromosomālajā analīzē. Mērķa DNS pēc fiksācijas un denaturēšanas ir pieejama hibridizācijai ar līdzīgi denaturētu, luminiscējošu marķētu DNS zondi, kurai ir papildu sekvenču. Pēc hibridizācijas nesaistītā un nespecifiski saistītā DNA zonde tiek aizvākta un DNS tiek kontrastēta vizualizācijai. Pēc tam, izmantojot luminiscences mikroskopiju, hibridizēto zondi var vizualizēt mērķa materiālā.

Informācija par zondi

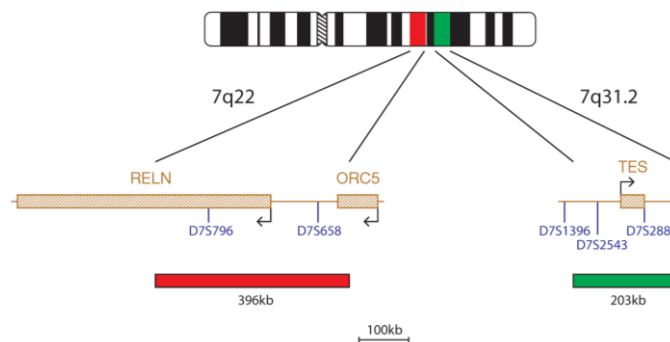
7. hromosomas monosomija un del(7q) ir konstatējamas dažādu mieloido traucējumu gadījumā, tostarp mielodisplastiskā sindroma (MDS), akūtās mieloidās leikēmijas (AML) un juvenlās mielomonocitiskās leikēmijas (JMML) gadījumā¹. Tās arī ir konstatējamas MDS un AML gadījumos pacientiem, kuri cieš no konstitucionāliem traucējumiem (piem., Fankoni anēmijas, Kostmana sindroma, 1. tipa neurofibromatozes un pārmantotas 7. hromosomas monosomijas)². 7. hromosomas monosomijas vai del(7q) kā kariotipisku izmaiņu klātbūtne ir saistīta ar nelabvēlīgāku iznākumu ļaundabīgu mieloido jaunveidojumu gadījumā^{1,3}.

7. hromosomas delēcijas parasti ir lielas, ar heterogenitāti pārtrauktumpunktos mieloido saslimšanu gadījumā, kas apgrūtina parasti deletēto reģionu (PDR) kartēšanu. Ir ļoti iespējams, ka vairāki antionkogēni 7. hromosomā līdzdarbojas leikemogēnēzē⁴. Iepriekš ir konstatēti divi PDR: viens ar atrašanās vietu 7q22 un otrs ar atrašanās vietu 7q31-q36^{2,5}; šis zonžu komplekts attiecas uz tiem abiem.

7. hromosomas delēcijas parasti ir lielas, ar heterogenitāti pārtrauktumpunktos mieloido saslimšanu gadījumā, kas apgrūtina parasti deletēto reģionu (PDR) kartēšanu. Ir ļoti iespējams, ka vairāki antionkogēni 7. hromosomā līdzdarbojas leikemogēnēzē⁴. Iepriekš ir konstatēti divi PDR: viens ar atrašanās vietu 7q22 un otrs ar atrašanās vietu 7q31-q36^{2,5}; šis zonžu komplekts attiecas uz tiem abiem.

Zondes specifikācija

7q22.1-q22.2, sarkana
7q31.2, zaļa



Zonde 7q22, marķēta sarkanā krāsā, nosedz 396kb reģionu, tostarp arī RELN gēna telomērisko galu, un plešas aiz marķiera D7S658. Zonde 7q31, marķēta zaļā krāsā, nosedz reģionu 203kb, tostarp arī TES gēnu.

Nodrošinātie materiāli

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

Zondes tiek nodrošinātas iepriekš sajauktā veidā hibridizācijas šķīdumā (formamīds; dekstrāna sulfāts; citrāta fizioloģiskais šķīdums (salīne-sodium citrāte — 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-diamidino-2-fenilindols)).

Brīdinājumi un piesardzības pasākumi

1. Paredzēts lietošanai *in vitro* diagnostikā. Tikai profesionālai lietošanai.
2. Apejoties ar DNS 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 esošajām vadlīnijām 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 kļūdaini pozitīvi vai kļūdaini 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 kļūdaini pozitīvi vai kļūdaini negatīvi rezultāti.

Uzglabāšana un apiešanās

Komplekts ir jāglabā saldētāvā, temperatūras diapazonā no -25 °C līdz -15 °C, līdz pat derīguma termiņa beigai datumam, kas norādīts uz komplekta marķējuma. Zondes un kontrasta krāsvielas flakoni ir jāuzglabā tumšā.

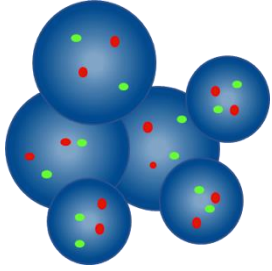
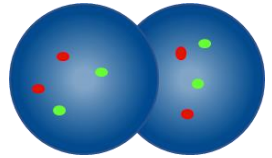
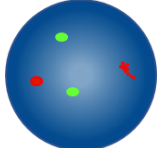
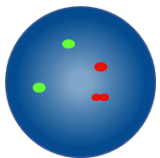


Zonde paliek stabila normālas lietošanas gaitā, neko šajos sasaldēšanas/atkausēšanas ciklos (vienu ciklu veido zondes izņemšana no saldētavas un ievietošana atpakaļ saldētāvā) un ir fotostabila līdz pat 48 stundām pēc nonākšanas pastāvīgā apgaismojumā. Ir jāveic viss iespējams, lai ierobežotu gaismas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

- Šūnu kodolu robežas nav izšķiramas un nav veselas.

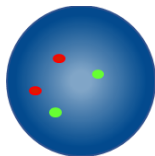
Uz analīzi attiecināmās vadlīnijas

- 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 jāskatās analīze no priekšmetstikliņa kreisās puses, savukārt otram laboratorijas speciālistam — no priekšmetstikliņa labās puses.
- Katram laboratorijas speciālistam jādokumentē savi rezultāti atsevišķās lapās.
- Ir jāanalizē tikai veselī kodoli, nevis pārklājošies kodoli, sablīvējušies kodoli vai kodoli, kurus sedz citoplazmatiskās atliekas vai augsta līmeņa autoluminiscence.
- 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.
- 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 pārklājošos kodolus — nav redzamas visas abu kodolu zonas
	Skaitīt kā divus sarkanus signālus un divus zaļus signālus — viens no abiem sarkanajiem signāliem ir difūzs
	Skaitīt kā divus sarkanus signālus un divus zaļus signālus — atstare vienā sarkanajā signālā ir mazāka nekā divi signāla platumi

Paredzamie rezultāti

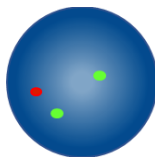
Paredzamais normālu signālu modelis



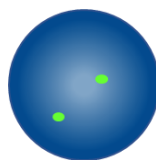
Normālā šūnā ir paredzami divi sarkani un divi zaļi signāli (2S, 2Z).

Paredzamie anormālo signālu modeļi

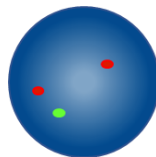
Deletētās šūnas var uzrādīt vienu no tālāk norādītajiem signālu modeļiem.



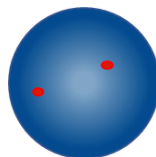
1. Ja delēcija ietver tikai proksimālo PDR un ir hemizigota, paredzamais signālu modelis ir viens sarkans un divi zaļi signāli (1S, 2Z).



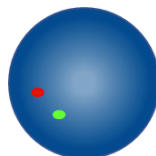
2. Ja delēcija ietver tikai proksimālo PDR un ir homozigota, paredzamais signālu modelis ir divi zaļi signāli, bez sarkaniem signāliem (0S, 2Z).



3. Ja delēcija ietver tikai distālo PDR un ir hemizigota, paredzamais signālu modelis ir divi sarkani un viens zaļš signāls (2S, 1Z).



4. Ja delēcija ietver tikai distālo PDR un ir homozigota, paredzamais signālu modelis ir divi sarkani signāli, bez zaļiem signāliem (2S, 0Z).



5. Viena sarkana un viena zaļa signāla modelis (1S, 1Z) ir novērojams 7. hromosomas monosomijas vai abu PDR hemizigotas delēcijas 7q gadījumā.

Citi signālu modeļi ir iespējami aneiploīdos/nelīdzsvarotos paraugos.

Zināmā krusteniskā reakcija

Nav zināmu krustenisko reakciju.

Ziņošana par nevēlamām notikumiem

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

Bar šādu notikumu arī var būt jāziņo kompetentajai iestādei attiecīgajā valstī. Kontaktpersonu medicīnas ierīču kontroles jautājumos saraksts ir atrodams šajā vietnē: <http://ec.europa.eu/growth/sectors/medical-devices/contacts/>.

Specifiskās veiktspējas 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 noteikts, to FISH signālu skaitu, kas hibridizējas ar pareizo lokusu, izdalot ar hibridizētu FISH signālu kopskaitu.

1. tabula Zondes Del (7q) Deletion Probe analītiskais specifiskums

Zonde	Mērķa lokuss	Ar pareizo lokusu hibridizēto signālu skaits	Hibridizēto signālu kopskaits	Specifiskums (%)
Sarkans 7q22	7q22.1	200	200	100
Zaļš 7q31	7q31.2	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 Zondes Del (7q) Deletion Probe analītiskais jutīgums

Sūnu ar paredzamiem signālu modeļiem skaits	Sūnu ar novērtējamiem signāliem skaits	Jutīgums (%)	95% ticamības intervāls
4945	5000	98,90	98,57–99,15

Normalitātes robežvērtību raksturojums

Uz FISH zondēm attiecināmā normalitātes robežvērtība ir maksimālā procentuālā vērtība novērtējamām interfāzes šūnām ar specifisku anormālo signālu modeli, ar kādu paraugs ir uzskatāms par normālu attiecībā uz šādu signālu modeli.

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 Zondes Del (7q) Deletion Probe normalitātes robežvērtību raksturojums

Anomālu signālu modelis	Robežvērtības ģenerēšanai analizēto paraugu skaits	Novērtēto kodolu skaits katrā paraugā	Maksimālais kļūdaini pozitīvo signālu modeļu skaits	Normalitātes robežvērtība (%)
1S, 2Z	1300	200	2	3,1
2S, 1Z	1300	200	8	6,8
1S, 1Z	1300	200	9	7,4

Laboratorijām jāveic robežvērtību verifikācija, izmantojot savus datus^{7,8}.

Reproducējamība

Reproducējamība tika noteikta trīs atsevišķās laboratorijās, kurās tika testēti seši kodēti paraugi (divi negatīvi attiecībā uz pārkārtojumu, divi zemas pakāpes pozitīvi paraugi, kas 1–3 reizes pārsniedza robežvērtību, un divi augsta līmeņa pozitīvi paraugi, kuros vairāk nekā 45% šūnu bija pozitīvas attiecībā uz pārkārtojumu). Analīze tika veikta, izmantojot divus katra parauga replikātus piecu nesečīgu dienu laikā.

Visās trīs norises vietās tika veikta testēšana dienas, starpdienas un starplaboratoriju režīmā, izmantojot vienu zonu partiju, kā arī vienā no norises vietām tika testēta stappartiju reproducējamība, izmantojot trīs atšķirīgas zonu partijas.

Reproducējamība tika aprēķināta, izmantojot katra testa ietvaros pētno mainīgo lielumu konverģenci.

4. tabula Zondes Del (7q) Deletion Probe reproducējamība un precizitāte

Reproducējamības izpēte	Paraugi	Konverģence (%)
Dienā/starpdienā/starplaboratoriju	Negatīva	100
	Augsta līmeņa pozitīva	100
Starppartiju	Negatīva	100
	Augsta līmeņa pozitīva	100

Klīniskā veikspēja

Klīniskā veikspēja tika noteikta, izmantojot reprezentatīvu neatlasītu pacientu kopu, kas tika nosūtīti uz vienu no divām izpētes norises vietām attiecībā uz AML vai MDS (vienā norises vietā tika apkopoti 100 paraugi, savukārt otrā norises vietā — 746 paraugi). Ar zondi noteikto pārkārtojumu incidentu daudzumi tika salīdzināti ar datiem, kas iegūti no literatūras avotiem.

Lai veiktu šo salīdzinājumu, literatūrā norādītais ticamības intervāls attiecībā uz populāciju 100 paraugu apmērā tika aprēķināts, aprēķinot 1 – paraugu proporciju testu ar kontinuitātes korekciju.

5. tabula Zondes Del (7q) Deletion Probe klīniskā veikspēja

Pārkārtojums	Izplatība				
	Literatūras apskats (%)	95% LCI (%)	1. norises vieta (%)	2. norises vieta (%)	95% UCL (%)
AML ar 7q zudumu/pārkārtojumu	5,7	2,5	4	7,1	12,7
MDS ar 7q zudumu/pārkārtojumu	3,6	1,1			10,0

Papildinformācija

Lai saņemtu papildinformāciju par produktu, sazinieties ar CytoCell tehniķa atbalsta nodaļu.

Tālr.: +44 (0)1223 294048

E-pasts: techsupport@cytozell.com

Tīmeklī: www.ogt.com

Atsauces

- Jerez *et al.*, Blood 2012;119(25):6109-6118
- Fisher *et al.*, Blood 1997;89(6):2036-2041
- Trobaugh-Lotrario *et al.*, Bone Marrow Transplantation 2005;35(2):143-149
- McNerney *et al.*, Blood 2013;121(6):975-983
- Thoenissen *et al.*, American J Haem 2011;86(8):699-701
- Arsham, MS., Barch, MJ. and Lawce HJ. (eds.) (2017) *The AGT Cytogenetics Laboratory Manual*. New Jersey: John Wiley & Sons Inc.
- Mascarello JT, Hirsch B, Kearney HM, et al. Section E9 of the American College of Medical Genetics technical standards and guidelines: fluorescence in situ hybridization. Genet Med. 2011;13(7):667-675.
- Wiktor AE, Dyke DLV, Stupca PJ, Ketterling RP, Thorland EC, Shearer BM, Fink SR, Stockero KJ, Majorowicz JR, Dewald GW. *Preclinical validation of fluorescence in situ hybridization assays for clinical practice*. Genetics in Medicine. 2006;8(1):16–23.

Simbolu skaidrojums

REF	Iv: Kataloga numurs
IVD	Iv: <i>In vitro</i> diagnostikai paredzēta medicīnas ierīce
LOT	Iv: Partijas kods
	Iv: Skatīt lietošanas instrukciju
	Iv: Ražotājs
	Iv: Derīguma termiņš
	Iv: Temperatūras ierobežojums
	Iv: Sargāt no saules gaismas
	Iv: Saturs ir pietiekams <n> testiem
CONT	Iv: Saturs

Patenti un preču zīmes

CytoCell ir SIA Cytozell reģistrēta 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@cytozell.com
Tīmeklī: www.ogt.com

