



A Sysmex Group Company



### Lietošanas instrukcija

REF: LPH 030-S/LPH 030

## Zonde IGH/FGFR3 Translocation, Dual Fusion Probe



### TIKAI PROFESIONĀLAM LIETOJUMAM



www.cytozell.com

Papildinformācija un informācija citās valodās ir pieejama vietnē  
[www.ogt.com](http://www.ogt.com)

### Ierobežojumi

Šī ierīce ir paredzēta pārkārtojumu ar pārtraukumpunktiem noteikšanai reģionā, ko nosedz sarkanie un zāļie kloni šajā zonžu komplektā, kurā ietilpst IGH un FGFR3 reģioni. Izmantojot šo produktu, var noteikt noteikti pārtraukumpunkti ārpus šī reģiona vai pārkārtojumu varianti, kas pilnībā ietilpst šajā reģionā.

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

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

Zinošana par luminiscentās *in situ* hibridizācijas rezultātiem un to interpretēšana ir jāveic atbilstoši profesionālajiem prakses standartiem un ir jāņem vērā citu kliniskā un diagnostikas informācija. Šīs komplekts ir paredzēts kā citu diagnostisko laboratorijas testu palīgķiezklis, un lēmumus par terapiju nedrīkst pieņemt, vadoties tikai pēc luminiscentās *in situ* hibridizācijas rezultātiem.

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

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

### Paredzētais lietojums

Zonde CytoCell IGH/FGFR3 Translocation, Dual Fusion Probe ir kvalitatīvs, neautomatizēts luminiscentās *in situ* hibridizācijas (fluorescence *in situ* hybridisation — FISH) tests, kas paredzēts hromosomālo pārkārtojumu noteikšanai starp 4. hromosomas reģionu 4p16.3 un 14. hromosomas reģionu 14q32.3. Kārtā ūdens (3:1 metanol/etikskābe) fiksētās hematoloģiski iegūtās šūnu suspensijās no pacientiem, kuriem ir konstatēta multiplā mēloma (MM) vai pastāv aizdomas par tās esamību.

### Indikācijas

Šīs produkts ir paredzēts kā citu klinisko un histopatoloģisko testu papildinājums atzītās diagnostikas un kliniskās aprūpes metodēs, kad informācija par IGH-FGFR3 translokācijas statusu ir svarīga kliniskajai pārvaldībai.

### Testa principi

Luminiscentā *in situ* hibridizācija (Fluorescence *in situ* hybridisation — FISH) ir metode, kas ļauj noteikt DNS sekvojas metafāzu hromosomās vai interfāzes kodolos fiksētiem citogenētiskiem paraugiem. Šajā metodē tiek izmantotas DNS zondes, kas hibridizējas ar veselām hromosomām vai atsevišķām unikālām sekvenčēm un kalpo kā efektīvs G joslu citogenētiskās analīzes palīgķiezklis. Šo metodi tagad var lietot kā būtisku izmeklēšanas instrumentu prenatālajā, hematoloģiskajā un solīdu audzēju hromosomālajā analīzē. Mērķa DNS pēc fiksācijas un denaturēšanas ir pieejama hibridizācijai ar līdzīgi denaturētu, luminiscējoši markētu DNS zondi, kurai ir papildu sekvoje. Pēc hibridizācijas nesaistītā un nespeciifiski saistītā DNA zonde tiek aizvēpta un DNS tiek kontrastēta vizualizācijai. Pēc tam, izmantojot luminiscentes mikroskopiju, hibridizēto zondi var vizualizēt mērķa materiālā.

### Informācija par zondi

FGFR3 (3. fibroblastu augšanas faktoru receptora) gēna atrašanās vieta ir 4p16.3, savukārt IGH (imūnglobulīna smagās kēdes lokusa) gēna atrašanās vieta ir 14q32.33.

Aptuveni 50–60% multiplās mēlomas (MM) gadījumu ir saistīti ar translokācijām, kurās iesaistīts IGH un viens no vairākiem partneriem, tostarp CCND1, NSD2 (MMSET) un FGFR3, CCND3, MAF vai MAFB<sup>1</sup>.

Jānorāda, ka t(4;14)(p16.3;q32.3) translokācijai ir atkārtota translokācija, kas konstatējama 15% MM gadījumu<sup>2,3</sup>.

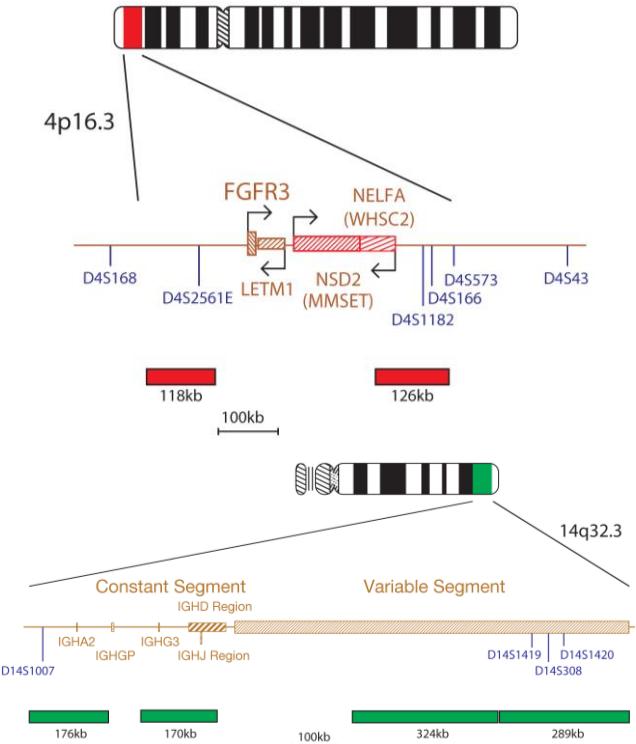
Translokācijas rezultātā rodas abu gēnu disregulācija atrašanās vietā 4p16 — NSD2 (nukleārā receptora saistošā SET domēna 2. proteīna) un FGFR3. Šīs translokācijas sekas ir FGFR3 un NSD2 ekspresijas palielināšanās. Translokācija var būt nelīdzvarota, 25% gadījumu notiekot 14. derivatīvās hromosomas zudumam, kas saistīts ar FGFR3 ekspresijas zudumu<sup>2,3</sup>.

Vairākums pārtraukumpunktu 4. hromosomā rodas starp FGFR3 un NSD2. Pārtraukumpunkts 14. hromosomā ir gandrīz tikai konstantogēnu pārsleķšanās reģionā. FGFR3 un NSD2 pārekspresijā pārtraukumpunktam 14. hromosomā jāatrodas starp pāstiprinātāju un 3' IGH pāstiprinātājiem, kā arī starp FGFR3 un NSD2. Līdz ar to abās derivatīvās hromosomās ietilpst pāstiprinātājs, kas atrodas blakus onkogēnam<sup>4</sup>.

Šī t(4;14) translokācija bieži ir citoģenētiski kriptiska un bija nepietiekami aprakstīta pirms FISH metožu ieviešanas. Šī translokācija ir saistīta ar mazākām izdzīvošanas izredzēm MM pacientiem<sup>2,3</sup>.

### Zondes specifikācija

FGFR3, 4p16.3, sarkanā  
IGH, 14q32.33, zaļa



IGH/FGFR3 produktā ietilpst zondes, markētās zāļā krāsā, kas nosedz IGH gēna konstanto, J, D un variablu reģionu, kā arī FGFR3 zondes, kas markētas sarkanā krāsā. FGFR3 zonžu maisījumā ietilpst 118kb zonde, kas novietota te lomēriski attiecībā pret FGFR3 un ietver markieri D4S2561E, un otra zonde, kas nosedz 126kb reģionu centromēriski attiecībā pret MMSET, ietverot D4S1182 markieri.

### Nodrošinātie materiāli

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

Zondes tiek nodrošinātas iepriekš sajauktā veidā hibridizācijas šķidumā (formamīds; dekstrāna sulfāts; citrāta fizioloģiskais šķidums (saline-sodium citrate — SSC)) un ir gatavas lietošanai.

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

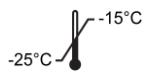
Kontrasta krāsviela ir DAPI luminiscences uzturēšanas šķidums (ES: 0,125 µg/ml DAPI (4,6-diamidino-2-fenilindols)).

### Brīdinājumi un piesardzības pasākumi

1. Paredzēts lietošanai *in vitro* diagnostikā. Tikai profesionālai lietošanai.
2. Apejoties ar DNS zondēm un DAPI kontrasta krāsvielu, Valkājet cīmus.
3. Zondes maisījumos ietilpst formamīds, kas ir teratogēns, tādēļ nedrīkst pielaut to izgarojumu ieelpošanu un nonāšanu saskarē ar ādu. Rīkojieties ar to piesardzīgi; Valkājet cīmus un laboratorijas virsvalku.
4. DAPI ir potenciāli kancerogēna viela. Rīkojieties ar to piesardzīgi; Valkājet cīmus un laboratorijas virsvalku.

- Atbrīvojieties no visām bīstamajām vielām atbilstoši jūsu iestādē spēkā esošajām vadlīnijām attiecībā uz bīstamu atkritumu utilizāciju.
- Operatoriem jāspēj atšķirt sarkano, zilo un zaļo krāsu.
- Neievērojot norādīto protokolu un norādījumus par reaģentiem, var tikt ietekmēta veikspēja un iegūti kļūdaini pozitīvi vai kļūdaini negatīvi rezultāti.
- Zondi nedrīkst atšķaidīt vai veidot maišjumus ar citām zondēm.
- Ja protokola priekšdenaturēšanas fāzes laikā netiek izmantoti 10 μl zondes, var tikt ietekmēta veikspēja un iegūti kļūdaini pozitīvi vai kļūda in i negatīvi rezultāti.

#### Uzglabāšana un apiešanās



Komplekts ir jāglabā saldētavā, temperatūras diapazonā no -25 °C līdz -15 °C, līdz pat derīguma termiņa beigu datumam, kas norādīts uz komplekta markējuma. Zondes un kontrasta krāsvielas flakoni ir jāuzglabā tumsā.



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

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

Ir jāizmanto kalibrēts aprīkojums.

- Sildierīce (ar cietu sildvirsmu un precīzu temperatūras regulēšanu līdz pat 80 °C)
- Kalibrētas dažāda tilpuma mikropipetes un uzgalji 1–200 μl diapazonā.
- Ūdens vanna ar precīzu temperatūras regulēšanu — 37 °C un 72 °C
- Mikrocentrifugas mēģenes (0,5 ml)
- Luminiscences mikroskopis (sk. sadaļu Ieteikumi attiecībā uz luminiscences mikroskopu)
- Fāžu kontrasta mikroskopis
- Tiri plastmasas, keramikas vai karstumizturīga stikla Koplina trauki
- Pincete
- Kalibrēta pH mērierce (vai pH indikatora strēmeles, ar kurām var veikt mērījumus pH 6,5–8,0 diapazonā)
- Konteiners ar mitru vidi
- Luminiscenci atbilstoša mikroskopa objektīva iegremdešanas eļļa
- Galda centrifūga
- Mikroskopa priekšmetstikliņi
- 24x24 mm segstikliņi
- Taimeris
- 37 °C inkubators
- Gumijas līme
- Virpuļmaisītājs
- Mērcilindri
- Magnētiskais maisītājs
- Kalibrēts termometrs

#### Papildaprīkojums, kas nav ietverts komplektācijā

- Citoģenētiskā žāvēšanas kamera

#### Nepieciešamie reaģenti, kas nav ietverti komplektācijā

- 20x cītrāta fizioloģiskais šķidums (saline-sodium citrate — SSC)
- 100% etanolis
- Tween-20
- 1M nātrija hidroksīds (NaOH)
- 1M sālsskābe (HCl)
- Attīrīts ūdens

#### Uz luminiscences mikroskopu attiecināmie ieteikumi

Lai nodrošinātu optimālu vizualizāciju, izmantojiet 100 W dzīvsudraba spuldzi vai ekvivalentu gaismu avotu un eļļu iegremdejāmus 60/63x vai 100x objektīvus. Šajā zonu komplektā izmantotie fluorofori tiks ierosināti un izstaros tālāk norādītā garuma viļņos.

Fluorofors	Ierosme <sub>maks.</sub> [nm]	Izstarošana <sub>maks.</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 spektrafiltru vai divjoslu zaļā spektra/sarkanā spektra filtru.

Pirms lietošanas pārbaudiet luminiscences mikroskopu, lai pārliecīnatos, vai tas darbojas pareizi. Izmantojiet iegremdešanas eļļu, kas piemērota luminiscences mikroskopijai un nodrošina zemu autoluminiscences līmeni. Izvairieties no DAPI luminiscences uzturēšanas šķiduma sajaukšanās ar mikroskopa iegremdešanu ar eļļu, jo pretējā gadījumā radīsies signāla traucējumi. Rīkojieties atbilstoši ražotāja ieteikumiem attiecībā uz spuldzes un filtru kalpošanas ilgumu.

#### Paraugu sagatavošana

Šis komplekts ir paredzēts izmantošanai ar hematoloģiski iegūtām šūnu suspensijām, kas fiksētas Karnuā ūdens (3:1 metāns/etikskābe) fiksatorā un ir sagatavotas atbilstoši laboratorijā vai iestādē spēkā esošajām vadlīnijām. Sagatavojiet gaisā nozīmētu paraugus uz mikroskopa priekšmetstikliniem atbilstoši standarta citoģenētiskajām procedūrām. AGT *citoģenētikas laboratorijas rokasgrāmatā* ir ietverti ieteikumi par paraugu nēmšanu, kultūrēšanu, ievākšanu un priekšmetstiklini sagatavošanu<sup>5</sup>.

#### Šķidumu sagatavošana

##### *Etanola šķidumi*

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

- 70% etanolis — 7 daļas 100% etanola ar 3 daļām attīrīta ūdens
  - 85% etanolis — 8,5 daļas 100% etanda ar 1,5 daļām attīrīta ūdens
- Glabājiet šķidumus līdz pat 6 mēnešiem istabas temperatūrā hermētiski noslēdzamā konteinerā.

#### 2xSSC šķidums

Atšķaidiet 1 daļu 20xSSC šķiduma 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 šķidumu līdz pat 4 mēnešu ilgumā istabas temperatūrā hermētiski noslēdzamā konteinerā.

#### 0,4xSSC šķidums

Atšķaidiet 1 daļu 20xSSC šķiduma 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 šķidumu līdz pat 4 mēnešu ilgumā istabas temperatūrā hermētiski noslēdzamā konteinerā.

#### 2xSSC, 0,05% Tween-20 šķidums

Atšķaidiet 1 daļu 20xSSC šķiduma ar 9 daļām attīrīta ūdens. Pievienojet 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 šķidumu līdz pat 4 mēnešu ilgumā istabas temperatūrā hermētiski noslēdzamā konteinerā.

#### Luminiscētās in situ hibridizācijas protokols

(Piezīme. Nodrošiniet, lai zonde un kontrasta krāsvielas pēc iespējas mazāk tik tu paklauta laboratorijas apgaismojuma iedarbībai.)

#### Priekšmetstikliņa sagatavošana

- Novietojet šūnu paraugu uz mikroskopa priekšmetstikliņa, kas izgatavots no stikla. Laujiet nožūt. (Pēc izvēles, ja tiek izmantota citoģenētiskā žāvēšanas kamera: priekšmetstikliņa sagatavošanai jāizmanto citoģenētiskā žāvēšanas kamera. Lai nodrošinātu optimālu šūnu parauga sagatav ošanu, kamera jādarbina, iestātot aptuveni 25 °C temperatūru un 50% mitruma. Ja citoģenētiskā žāvēšanas kamera nav pieejama, kā alternatīvu var izmantot gāžu nosūcēju.)
- legremdejiet priekšmetstikliņu 2xSSC šķidumā istabas temperatūrā uz 2 minūtēm, neveicot maišanu.
- Veiciet dehidrēšanas etanolā sērijas (70%, 85% un 100%), katru 2 minūtēs istabas temperatūrā.
- Laujiet nožūt.

#### Priekšdenaturēšana

- Izņemiet zondi no saldētavas un laujiet tai sasilt līdz istabas temperatūrai. Pirms mēģētu lietošanas brīdi tās centrifugējiet.
- Izmantot pipeti, pārliecīties, vai zondes šķidums ir viendabīgi samaisīts.
- Panemiet 10 μl zondes šķiduma katram testam un pārnesiet to uz mikrocentrifugas mēģeni. Atlikušo zondes šķidumu nekavējoties ievietojiet atpakaļ saldētavā.
- Novietojet zondi un parauga priekšmetstikliņu uz sildierīces un veiciet priekšsildīšanu 37 °C (+/- 1 °C) temperatūrā 5 minūtes.
- Uzlieciet 10 μl zondes maišījuma uz šūnu parauga un rūpīgi uzlieciet segstikliņu. Hermetizējiet ar gumijas līmi un laujiet līmei pilnībā nožūt.

#### Denaturēšana

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

#### Hibridizācija

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

#### Skalošana pēc hibridizācijas

- Izņemiet DAPI no saldētavas un laujiet tam sasilt līdz istabas temperatūrai.
- Noņemiet segstikliņu un rūpīgi nožīriet visas līmes atliekas.
- legremdejiet priekšmetstikliņu 0,4xSSC (pH 7,0) 72 °C (+/- 1 °C) temperatūrā uz 2 minūtēm nemaisot.
- Noteciniet šķidrumu no priekšmetstikliņa un iegremdejiet to 2xSSC, 0,05% Tween-20 šķidumā istabas temperatūrā (pH 7,0) uz 30 sekundēm nemaisot.
- Noteciniet šķidrumu no priekšmetstikliņa katram paraugam pievienojiet 10 μl DAPI luminiscences uzturēšanas līdzekli.
- Uzlieciet segstikliņu, likvidējiet burbulus un laujiet krāsai tumsā atlīstīties 10 minūtes.
- Skatiel luminiscences mikroskopā. (Sk. sadaļu Ieteikumi attiecībā uz luminiscences mikroskopu.)

#### Sagatavoto priekšmetstikliņu stabilitāte

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

#### Ieteikumi attiecībā uz procedūru

- Priekšmetstikliņu karsēšana vai novecišana var samazināt signāla luminiscenci.
- Tādu reaģentu izmantošana, kas nav uzņēmuma Cytocell Ltd. nodrošināti un vairi ieteiktie reaģenti, var nelabvēlīgi ieteikmēt hibridizācijas apstākļus.
- Šķidumu, ūdens vannu un inkubatoru temperatūras mērišanai jāizmanto kalibrēts termometrs, jo norādītās temperatūras ievērošana ir kritiski svarīga produkta optimālas veikspējas nodrošināšanai.

- Skalošanas šķidumu koncentrācijas, pH vērtības un temperatūras vērtības ir svarīgas, jo pārāk lielas pielaides gadījumā iespējama nespecifiska sasaiste, savukārt pārāk mazas pielaides gadījumā iespējama signāla nepietiekamība.
- Nepilnīga denaturēšana var izraisīt signāla nepietiekamību, savukārt pārmērīga denaturēšana arī var izraisīt nespecifisku sasaiste.
- Pārmērīgas hibridizācijas dēļ iespējami papildu vai neparedzēti signāli.
- Pirms testa izmantošanas diagnostikas nolūkiem lietotājiem ir jāveic protokola optimizācija atbilstoši saviem paraugiem.
- Ja apstākļi nav pieteikami optimāli, iespējama nespecifiska sasaiste, kas var tikt nepareizi interpretēta kā zondes signāls.

#### **Rezultātu interpretēšana**

##### **Sagatavotā priekšmetstikliņa ar paraugu kvalitātes novērtēšana**

Paraugs nedrīkst analizēt tālāk norādītajos gadījumos.

- Signāli ir pārāk vāji analizēšanai atsevišķos filtros — lai veiktu analizi, signāliem jābūt spilgtiem, labi izšķiramiem un viegli novērtējamiem.
- Iz daudz salipšu/pārkājošo šūnu, kas traucē veikt analīzi.
- >50% šūnu nav hibridizētas.
- Starp šūnām atrodas pārāk daudz luminiscējošo dalīju un/vai luminiscējošs aizmuglojums, kas rada signāla traucējumus, — optimāla priekšmetstikliņā ar paraugu fonam jābūt tumšam vai melnam un tīram.
- Šūnu kodolu robežas nav izšķiramas un nav veselas.

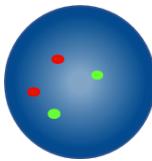
#### **Uz analīzi attiecināmās vadlīnijas**

- 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 līmena standartiem.
- Katram laboratorijas speciālistam neatkarīgi jāveic novērtēšana 100 kodoliem no katras parauga. Pirmajam laboratorijas speciālistam jāsāk analīze no priekšmetstikliņa kreisās puses, savukārt otram laboratorijas speciālistam — no priekšmetstikliņa labās puses.
- Katram laboratorijas speciālistam jādokumentē savi rezultāti atsevišķas lapās.
- Iz jāanalizē tikai veseli kodoli, nevis pārkājošes kodoli, sablīvējušies kodoli vai kodoli, kurus sedz citoplazmatiskās atliekas vai augsta līmena 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 pieteikami optimāli, signāli var šķist izkliedēti. Ja divi vienādās 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.

<b>Uz analīzi attiecināmās vadlīnijas</b>	
	Neskaitīt — kodoli atrodas pārāk tuvu viens otram, lai varētu noteikt to robežas
	Neskaitīt pārkājošos 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 — atstarpe vienā sarkanajā signālā ir mazāka nekā divi signāla platumi

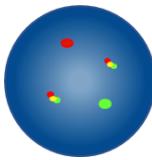
#### **Paredzamie rezultāti**

##### **Paredzamais normālu signālu modelis**



Normāla šūnā ir paredzami divi sarkanai un divi zaļi signāli (2S, 2Z).

##### **Paredzamais anormālo signālu modelis**



Šūnā ar t(4;14)(p16.3;q32.3) translokāciju paredzamais signālu modelis ir viens sarkans, viens zaļš un divas fūzijas (1S, 1Z, 2F).

Citi signālu modeli ir iespējami aneipbīdos/helīdzvarotos paraugos. Nemiet vērā, ka citu tādu IGH pārkātojumu gadījumā, kas nav IGH/FGFR3 translokācija, zaļās IGH signāls var izskatīties sadalīts.

#### **Zināmā krusteniskā reakcija**

Zaļā IGH zonde var uzrādīt krustenisko hibridizāciju ar 15q11.2 un 16p11.2

#### **Zinošana par nevēlamiem notikumiem**

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

Bar šādu notikumu arī var būt jāzīno kompetentajai iestādei attiecīgajā valstī. Kontaktersonu medicīnas ierīču kontroles jautājumos saraksts ir atrodamšs šajā vietnē: <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 tiek noteikts, veicot 200 mērķa lokusu analīzi. Analītiskais specifiskums tiek noteikts, luminiscentās in situ hibridizācijas signālu, kas hibridizējas ar pareizo lokusu, skaitu izdalot ar hibridizēto luminiscentās in situ hibridizācijas signālu kopskaitu.

##### **1. tabula Zondes IGH/FGFR3 Translocation, Dual Fusion Probe analītiskais specifiskums**

Zonde	Mērķa lokuss	Ar pareizo lokusu hibridizēto signālu skaits	Hibridizēto signālu kopskaita	Specifiskums (%)
Sarkanis FGFR3	4p16.3	200	200	100
Zaļš IGH	14q32.3	200	200	100

##### **Analītiskais jutīgums**

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

##### **2. tabula Zondes IGH/FGFR3 Translocation, Dual Fusion Probe analītiskais jutīgums**

Šūnu ar paredzamiem signālu modeļiem skaits	Šūnu ar novērtējamiem signāliem skaits	Jutīgums (%)	95% ticamības intervāls
469	500	93,8	2,3

#### **Normalitātes robežvērtību raksturojums**

Uz luminiscentās in situ hibridizācijas zondēm attiecināmā normalitātes robežvērtība ir novērtējamu interfāzes šūnu ar specifisku anormālo signālu modeļi, ar kādu paraugs ir uzskatāms par normālu attiecībā uz šādu signālu modeļi, maksimāla procentuāla vērtība.

Normalitātes robežvērtība tiek noteikta, izmantojot paraugus no normāliem un pozitīviem pacientiem. Katram paraugam tiek reģistrēti 100 šūnu signālu modeļi. Tie aprēķināti Jūdena indeks, lai noteiku robežvērtību, kurai ir maksimāls jutīgums + specifiskums -1.

3. tabula Zondes IGH/FGFR3 Translocation, Dual Fusion Probe normalitātes robežvērtību raksturojums

Anomālu signālu modelis	Jūdena indekss	Normalitātes robežvērtība (%)
1S, 1Z, 2F	0,99	1

Laboratorijām jāveic robežvērtību verifikācija, izmantojot savus datus<sup>6,7</sup>.

**Precizitāte un reproducējamība**

Precizitāte ir testa dabīgo atšķirību rādītājs, testu atkārtojot 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, nemot 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 replikātus vienā dienā. Katram paraugam tika reģistrēti 100 interfāzes šūnu signālu modeļi un tika aprēķināta šūnu ar paredzamo signālumodeli procentuālā vērtība.

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

4. tabula Zondes IGH/FGFR3 Translocation, Dual Fusion Probe reproducējamība un precizitāte

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

**Kliniskā veikspēja**

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

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

5. tabula Zondes IGH/FGFR3 Translocation, Dual Fusion Probe kliniskā veikspēja

Mainīgais	Rezultāts
Kliniskais jutīgums (pareizi pozitīvo rezultātu rādītājs (true positive rate — TPR))	99,9%
Kliniskais specifisks (pareizi negatīvo rezultātu rādītājs (true negative rate — TPR))	100%
Klūdaini pozitīvo rezultātu rādītājs (false positive rate — FPR) = 1 - specifisks	0%

**Papildinformācija**

Lai saņemtu papildinformāciju par produktu, sazinieties ar CytoCell tehniskā atbalsta nodalju.

Tālr.: +44 (0)1223 294048

E-pasts: techsupport@cytocell.com

Timelī: www.ogt.com

**Atsaucēs**

1. Fonseca *et al.*, Cancer Res 2004;64: 1546-58
2. Fonseca *et al.*, Leukemia 2009;23(12):2210-2221
3. Sawyer, Cancer Genetics 2011;204(1):3-12
4. Walker *et al.*, Blood 2013;121(17):3413-3419
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
IVD	Iv: In vitro diagnostikas ierīce
LOT	Iv: Partijas kods
	Iv: Skatīt lietošanas instrukciju
	Iv: Ražotājs
	Iv: Derīguma termiņš
	Iv: Temperatūras ierobežojums
	Iv: Sargāt no saules gaismas
	Iv: Pietiek šādam skaitam testu: <n>
CONT	Iv: Saturis

**Patenti un preču zīmes**

CytoCell ir SIA Cytocell 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@cytocell.com  
Timelī: www.ogt.com

