



A Sysmex Group Company



## Kasutusjuhend

REF: LPH 108-S / LPH 108

### IGH/MAF Plus v2 Translocation, Dual Fusion Probe



AINULT ERIALASEKS KASUTAMISEKS



www.cytoCELL.com

Lisateave ja muud keeled on saadaval aadressil [www.ogt.com](http://www.ogt.com)

#### Piirangud

Seade on loodud tuvastama murdepunktidega ümberkorraldusi sondikomplekti punase ja rohelise klooniga seotud piirkonnas, mis sisaldab IGH ja MAF piirkondi. 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 analüüsimiseks, populatsioonipõhiseks skriininguks, patsiendilähedaseks analüüsimiseks või isendal analüüsimiseks. 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 erialastele 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 jätmine võib mõjutada analüüsi toimivust ja põhjustada valepositiivseid/negatiivseid tulemusi.

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

#### Kasutusotstarve

Sond CytoCell IGH/MAF Plus v2 Translocation, Dual Fusion Probe on kvalitatiivne, mitteautomaatne, fluorestsents *in situ* hübriidatsiooni (FISH) uuring, mida kasutatakse 14. kromosoomi 14q32.3 piirkonnas ja 16. kromosoomi 16q23 piirkonna vaheliste kromosomaalsete ümberkorralduste tuvastamiseks Camoy lahuses (3:1 metanool/atseethape) fikseeritud hematoloogilist tuletatud rakususpensioonides, mis pärinevad kinnitatud või kahtlustatud hulgmüeloomiga (MM) patsientidelt.

#### Näidustused

See toode on loodud täiendusena teistele kliinilistele ja histopatoloogilistele uuringutele tunnustatud diagnostilistes ja kliinilistes raviteedes, kus teadmised IGH-MAF translokatsiooni oleku kohta on kliinilise ravi seisukohalt olulised.

#### Analüüsi põhimõte

Fluorestsents *in situ* hübriidatsioon (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 tsütogeneetilise analüüsi võimeka täiendusena. Seda meetodit saab nüüd rakendada prenataalse, hematoloogilise ja tahke kasvaja kromosomaalse analüüsi esmatähtsa uuringu tööriistana. Fikseeritud ja denatureeritud sihtmärk DNA on saadaval samase denatureeritud, fluorestsentsmarkeriga DNA sondiga paardumiseks, millel on komplementaarne järjestus. Peale hübriidseerimist eemaldatakse seondumata ja ebaspetsiifiliselt seotud DNA sond ning DNA visualiseeritakse vastandvärvimisega. Seejärel võimaldab fluorestsentsmikroskoopia hübriidseeritud sondi visualiseerimist sihtmärkmaterjalil.

#### Sondi teave

MAF (MAF bZIP transkriptsioonifaktor) geen on asukohas 16q23 ja IGH (immuunglobuliini raske lookus) asukohas 14q32.3. Ligikaudu 50–60% hulgmüeloomi (MM) juhtudest on seotud translokatsioonidega, mis hõlmavad IGH-d ja ühte mitmest partnerist, sh CCND1, NSD2 (WHSC1) ja FGFR3, CCND3, MAF või MAFB<sup>1</sup>. t(14;16)(q32.3;q23) translokatsioon on rekurrentne translokatsioon, mida leidub 2–10% MM-dest<sup>1</sup>.

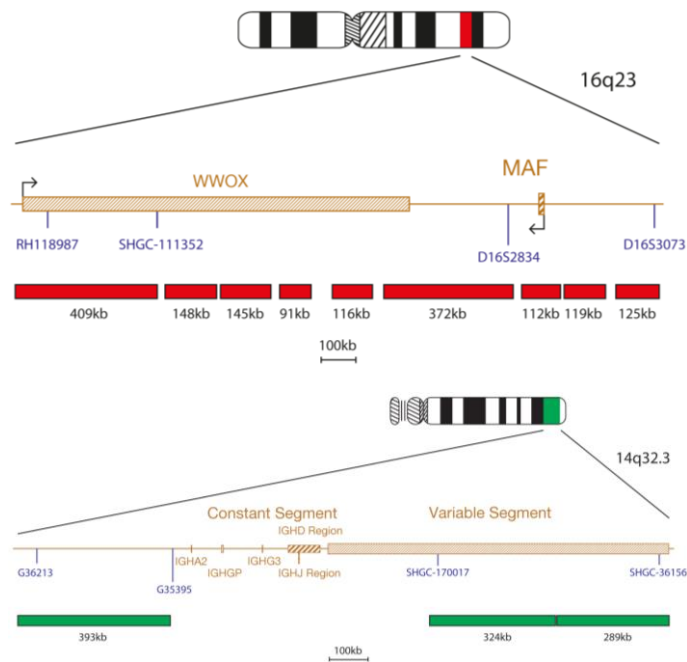
Enamik murdepunkte esinevad WWOX-i viimases intronis (WW domeen, mis sisaldab oksidoreduktaasi) MAF-i suhtes tsentromeerselt. Neil murdepunktidel on topeltoime, viies IGH enhanseri MAF-i lähedale ja lõhestades WWOX geeni<sup>2</sup>. Müeloomi rakuliinide geeniekspressiooni profiilimine paljastas, et MAF põhjustab tsükliini D2 (rakutsükli progressiooni soodustaja) transaktiivsiooni, parandades seega müeloirakkude proliferatsiooni<sup>3</sup>.

Kirjanduse kohaselt on MM-ga patsientide, kellel esineb t(14;16), kliiniline kulgu agressiivsem<sup>4,5</sup>.

#### Sondi spetsifikatsioon

MAF, 16q23, punane

IGH, 14q32.3, roheline



IGH/MAF Plus v2 Translocation, Dual Fusion Probe sisaldab IGH piirkonna konstantsele segmendile proksimaalseid ja muutuva segmendi piires asuvaid rohelisega märgistatud IGH sonde ja punasega märgistatud MAF sonde, mis hõlmavad MAF geeni ja piirnevaid piirkondi ning WWOX geeni.

#### Tarnitavad materjalid

**Sond:** 50 µl viali kohta (5 analüüsi) või 100 µl viali kohta (10 analüüsi)  
Sondid tarnitakse eelsegatuna hübriidseerimislahuses (formamid, dekstraansulfaat; naatriumsitraadi soolalahus (saline-sodium citrate, SSC)) ja on valmis kasutamiseks.

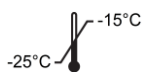
#### Vastandvärv:

150µl viali kohta (15 analüüsi)  
Vastandvärv on DAPI, pleekimisvastane (Sisaldus: 0,125 µg/ml DAPI (4,6-diamidino-2-fenüülindool).

#### Hoiatused ja ettevaatusabinõud

1. *In vitro* diagnostiliseks kasutamiseks. Ainult erialaseks kasutamiseks.
2. DNA sondide ja DAPI vastandvärviga käsitsemisel kandke kindaid.
3. Sondi segud sisaldavad formamiidi, mis on teratogeenne; ärge hingake sisse auru ning vältige kontakti nahaga. Käsitsege ettevaatlikult; kasutage kindaid ja laborikitlit.
4. DAPI on potentsiaalne kartsinogeen. Käsitsege ettevaatlikult; kasutage kindaid ja laborikitlit.
5. Vabanege kõigist ohtlikest jäätmetest oma asutuse ohtlike jäätmete käitlemise eeskirjade kohaselt.
6. Kasutajad peavad olema suutelised eristama punast, sinist ja rohelist värvi.
7. Esitatud protokoll ja reaktiivide järgimata jätmine võib mõjutada analüüsi toimivust ja põhjustada valepositiivseid/valenegatiivseid tulemusi.
8. Sondi ei tohiks lahjendada ega segada teiste sondidega.
9. Kui denatureerimise eeletpis ei kasutata 10 µl sondi, nagu on protokollis ette nähtud, siis võib see mõjutada analüüsi toimivust ja põhjustada valepositiivseid/valenegatiivseid tulemusi.

## Säilitamine ja käsitsemine



Komplekti tuleks säilitada külmutatuna temperatuurivahemikus -25...-15 °C kuni kehtivusaaja lõpuni, mis on esitatud toote etiketil. Sondi ja vastandvärvi viaale tuleb säilitada pimedas.



Sond säilitab stabiilsuse normaalse kasutamise ajal esinevate sulatamise ja külmutamise tsüklite kestel (kus üks tsüklil kestab sondi eemaldamisest külmutusest 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

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 soovitusete 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 katteklasiid
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 naatriumhüdrosiid (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 komplektis kasutatud fluorfoorid aktiveeruvad ja emiteerivad järgnevatel lainepikkustel:

Fluorfoor	Eksitatsioon <sub>max</sub> [nm]	Emissioon <sub>max</sub> [nm]
Roheline	495	521
Punane	596	615

Veenduge, et asjakohased eksitatsiooni- ja emissioonifiltrid, 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 fluorfoori samaaegselt optimaalseks visualiseerimiseks.

Kontrollige enne kasutamist fluorestsentsmikroskoopi, et veenduda selle korrasolekus. Kasutage immersioonõli, mis on fluorestsentsmikroskoopiaks 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 kohta<sup>7</sup>.

## Lahuse ettevalmistamine

### Etanooli lahused

Lahjendage 100%-line 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 lahuse

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.

## 0,4x SSC lahuse

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 lahuse

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 tõmbekappi).
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 külmikest ja laske sel soojeneda toatemperatuurile. Tsentrifuugige katsuteid lühidalt enne kasutamist.
6. Veenduge, et sondi lahust on ühtlaselt segunenud, kasutades pipetti.
7. Eemaldage 10 µl sondi analüüsi kohta ja viige see mikrotsentrifuugi katsutisse üle. Tagastage ülejäänud sond kiiresti külmikest.
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 külmikest ja laske soojeneda toatemperatuurile.
13. Eemaldage ettevaatlikult katteklasiid ja kõik liimijälgid.
14. Kastke 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 katteklasiiga, eemaldage mullid ja laske värvil pimedas kujuneda 10 minutit.
18. Vaadake fluorestsentsmikroskoobiga (vt **Fluorestsentsmikroskoobi soovitus**).

## Valmis slaidide stabiilsus

Valmis slaidid on analüüsivad 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

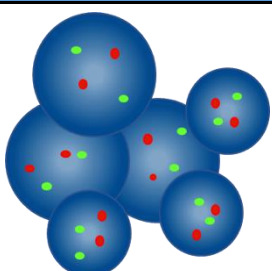
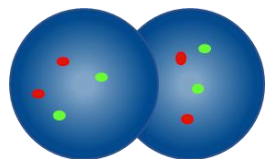
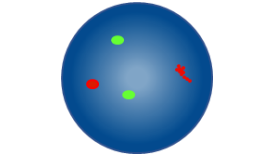
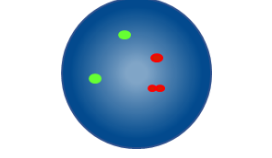
### Slaidi kvaliteedi hindamine

Slaidi ei tohiks analüüsida, kui

- signaalid on ühe filtriga analüüsimiseks liiga nõrgad – analüüsi jätkamiseks peaksid signaalid olema eredad, selged ja lihtsalt hinnatavad;
- liiga palju kokkuleepunud/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.

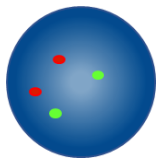
### Analüüsi eeskirjad

- Igat proovi peaks analüüsima ja tõlgendama kaks analüütikut. Kõik lahknevused tuleks lahendada kolmanda analüütiku hinnanguga
- Analüütikud peaks 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 paremat küljelt.
- Iga analüütik peaks oma tulemused üles märkima eraldi andmekandjale.
- Analüüsige vaid terviklikke tuumi, mitte kattuvaid või kokkuleepunud või tsütoplasma jääkidega kaetud ega autofluorestsentseerivaid tuumi.
- Vältige alasid, kus esineb liigseid tsütoplasma jääke või ebaspetsiifilist hübriidiseerimist.
- Signaali tugevus võib vahelduda, isegi ühe tuuma piires. Sellistel juhtudel kasutage üksikfiltrid 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 kahtlete, kas proov on analüüsimiseks sobiv, siis ärge analüüsige seda.

Analüüsi eeskirjad	
	Mitte lugeda, kui tuumad on piiride määramiseks üksteisele liiga lähedal
	Mitte lugeda kattuvaid tuumasid, sest mõlema tuumi kõik alad ei ole näha
	Lugeda kahe punase signaalina ja kahe rohelise signaalina, kui üks kahest punasest signaalist on difuusne
	Lugeda kahe punase signaalina ja kahe rohelise signaalina – ühe punase signaali tühimik on väiksem kui kaks sondilaiust

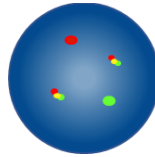
### Eeldatavad tulemused

#### Eeldatav normaalne signaalimuster



Normaalse raku eeldatav tulemus on kaks punast ja kaks rohelist signaali (2P, 2R).

### Eeldatav ebanormaalne signaalimuster



t(14;16)(q32.3;q23) translokatsiooniga rakus on eeldatav signaalimuster üks punane, üks roheline ja kaks fusioonisignaali (1R, 1G, 2F).

Aneuploidsete/tasakaalustamata proovides võivad esineda teised signaalimustrid. Pange tähele, et IGH/MAF translokatsioonist erinevate IGH ümberkorralduste esinemisel võib roheline IGH signaal paista kahestunud.

### Teadaolev ristreaktiivsus

Roheline IGH sond võib näidata risthübriidiseerimist 15q11.2 ja 16p11.2 suhtes.

### 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**: [vigilance@cg.com](mailto:vigilance@cg.com)).

Kui see on kohandatav, tuleks sündmusest teavitada riiklikku pädevat asutust. Pädevate ametiasutuste loend on esitatud lehel <http://ec.europa.eu/growth/sectors/medical-devices/contacts/>.

### Spetsiifilised toimivuskarakteristikud

#### Analüütiline spetsiifilisus

Analüütiline spetsiifilisus on määratletud kui üksnes õige lookusega hübriidiseeritud signaalide protsent. Analüüsiti nelja kromosomaalset lookust viie proovi kõigis kahekümmes metafaasi rakus, saades 400 andmepunkti. Iga hübriidiseeritud sonni asukoht kaardistati ja õige lookusega hübriidiseeritud metafaasi kromosoomi FISH-i signaalide arv salvestati.

Arvutati komplekti iga sonni analüütilise spetsiifilisuse number, jagades õige lookusega hübriidiseeritud metafaasi kromosoomi FISH-i signaalide arvu hübriidiseeritud metafaasi kromosoomi FISH-i signaalide koguarvuga, saadud tulemus korrutati 100-ga, väljendati protsendina ja anti 95% usaldusvahemik.

Tabel 1. Sonni IGH/MAF v2 Translocation, Dual Fusion Probe analüütiline spetsiifilisus

Shtmärk	Hübriidiseeritud metafaasi kromosoomide arv	Õigesti hübriidiseeritud lookuste arv	Analüütiline spetsiifilisus	95%-line usaldusvahemik
14q32.3	200	200	100%	98,12–100%
16q23	200	200	100%	98,12–100%

#### Analüütiline tundlikkus

Analüütiline tundlikkus on hinnatavate interfaasi rakkude protsent eeldatava normaalse signaalimustriga suhtes. Iga karüotüüpilisel normaalse fikseeritud luuüdi proovi või IGH ümberkorralduse suhtes negatiivse luuüdi proovi ja 25 IGH negatiivse CD138+ rakuproovi kohta analüüsiti vähemalt 200 interfaasi raku, saades tulemuseks vähemalt 5000 tuuma iga proovitüübi kohta. Tundlikkuse andmeid analüüsiti normaalse eeldatava signaalimustriga rakkude protsendi alusel ja väljendati protsendina 95% usaldusvahemikuga.

Tabel 2. Sonni IGH/MAF v2 Translocation, Dual Fusion Probe analüütiline tundlikkus

Proovi tüüp	Tundlikkuse kriteerium	Tundlikkuse tulemus
Luuüdi	>95%	98,76% ± 0,55%
CD138+	>95%	96,64% ± 1,17%

#### Normaalse väljaarvamise piirväärtuste kirjeldus

Normaalne väljaarvamine määratletakse nende rakkude protsendina, mis näitavad valepositiivset signaalimustrit, mille korral isik loetakse normaalseks ja kliinilisele diagnoosile mitteavastavaks. Iga karüotüüpilisel normaalse fikseeritud luuüdi proovi või IGH ümberkorralduse suhtes negatiivse luuüdi proovi ja 25 IGH negatiivse CD138+ rakuproovi kohta analüüsiti vähemalt 200 interfaasi raku, saades tulemuseks vähemalt 5000 tuuma iga proovitüübi kohta.

Väljaarvamise piirväärtus määratleti MS Excelis funktsiooniga β-inverse (BETAINV). See arvutati valepositiivset signaalimustrit näitavate interfaasi rakkude protsendina, kasutades normaalse patsiendiproovi binominaalse jaotuse ühepoolse 95% usaldusvahemiku ülemist seotust.

Tabel 3. Sonni IGH/MAF v2 Translocation, Dual Fusion Probe normaalse väljaarvamise piirväärtuste kirjeldus

Proovi tüüp	Väljaarvamise tulemus
Luuüdi	1,5%
CD138+	2,5%

Laborid peavad oma andmete põhjal väljaarvamise piirväärtused kinnitama<sup>7,8</sup>.

### Täpsus

Selle toote täpsus on mõõdetud päevasisese täpsusena (proov-prooviga), päevadevahelise täpsusena (päev-päevaga) ja ühe asutuse partiidevahelise täpsusena (partii-partiiga).

Toote täpsuse hindamisel kasutati kolme proovi: üks konstrueeritud normaalne luuüdi proov (ammutatud 25 üksikust proovist), üks konstrueeritud normaalne CD138+ proov (ammutatud 28 üksikust proovist) ja üks nõrgalt positiivne CD138+ proov (2-4x toote väljaarvamine, loodi normaalse CD138+ proovi pikeerimisel teadaoleva positiivse prooviga), mida kasutati toote testimisel kindlaks tehtud väljaarvamise ümbruses.

Päevadevahelise ja päevasisese täpsuse kindlaks tegemiseks hinnati proove viiel mittejärjestikusel päeval ning partii-partiiga täpsuse kindlaks tegemiseks hinnati toote kolme partiid sama proovi nelja replikaadiga. Tulemused esitati üldise ühilduvusena prognoositud negatiivse klassiga (negatiivsete proovide korral).

**Tabel 4. Sondid IGH/MAF v2 Translocation, Dual Fusion Probe reprodutseeritavus ja täpsus**

Muutuja	Proovi tüüp	Ühilduvus
Päevasisene ja päevadevaheline täpsus	Normaalne luuüdi (negatiivne)	100%
	Normaalne CD138+ (negatiivne)	100%
	Nõrgalt positiivne CD138+	100%
Partii-partiiga täpsus	Normaalne luuüdi (negatiivne)	100%
	Normaalne CD138+ (negatiivne)	100%
	Nõrgalt positiivne CD138+	100%

### Kliiniline toimivus

Tagamaks, et toode tuvastab ettenähtud ümberkorraldused, tehti toote kliiniline toimivus kindlaks toote sihtpopulatsiooni esindusproove hõlmava kahe uuringuga: ühes rakendati CD138+ proove ja teises luuüdi proove. Kummagi uuringu proovide hulk oli 20 proovi, sihtpopulatsiooniga vis IGH-MAF fusioonpositiivset proovi ja 15 IGH-MAF fusioonnegatiivset proovi. Analüüsi mõjutamise vältimiseks kõik proovid anonümiseeriti ja randomiseeriti. Tulemusi võrreldi proovi teadaoleva olekuga. Sond tuvastas kõigil juhtudel proovi oleku õigesti.

Testide tulemusi analüüsiti ühemõõtelise meetodiga, et selgitada välja positiivsete signaalide kliinilise tundlikkuse, kliinilise spetsiifilisuse ja valepositiivsuse määra (FPR) väärtused.

**Tabel 5. Sondid IGH/MAF v2 Translocation, Dual Fusion Probe kliiniline toimivus**

Muutuja	Tulemus
Kliiniline tundlikkus (tõeselt positiivsete määr) (true positive rate, TPR)	98,1%
Kliiniline spetsiifilisus (tõeselt negatiivsete määr) (true negative rate, TNR)	100%
Valepositiivsete määr (false positive rate, FPR) = 1 – spetsiifilisus	0%

### Lisateave

Lisateavet saate kontakteerudes ettevõtte CytoCell tehnilise toe osakonnaga.

**Tel:** +44 (0)1223 294048










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

**W:** www.ogt.com

### Viited

1. Fonseca *et al.*, Cancer Res 2004;64:1546-1558
2. Walker *et al.*, Blood 2013;121(17):3413-3419
3. Chang H *et al.*, Leukemia 2007;21:1572-1574
4. Fonseca *et al.*, Leukemia 2009;23(12):2210-2221
5. Sawyer, Cancer Genetics 2011;204(1):3-12
6. Arsham, MS., Barch, M.J. and Lawce HJ. (eds.) (2017) *The AGT Cytogenetics Laboratory Manual*. New Jersey: John Wiley & Sons Inc.
7. 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.
8. 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.

### Sümbolite seletus

REF	et: Kataloogi number
	et: <i>In vitro</i> diagnostiline meditsiiniseade
	et: Partii number
	et: Vt kasutusjuhised
	et: Tootja
	et: Kõlblik kuni
	et: Temperatuuripiirang
	et: Hoidke päikesevalguse eest kaitstult
	et: Sisaldus piisav <n> analüüsi jaoks
	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  
Fax: +44(0)1223 294986  
E-mail: probes@cytoCELL.com  
W: www.ogt.com

