



A Sysmex Group Company



## Lietošanas instrukcija

ATS.: LPH 108-S/LPH 108

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



TIKAI PROFESIONĀLAI LIETOŠANAI



www.cytocell.com

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

#### Ierobežojumi

Šī ierīce ir paredzēta pārkārtojumu ar pārtraukumpunktiem noteikšanai reģionā, ko ietver sarkanie un zaļie kloni šajā zonu komplektā, kas ietver IGH un MAF reģionus. 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 attiecināmo testu rezultātus.

Šis produkts nav apstiprināts lietošanai tādu tipu paraugiem vai slimībām, 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 IGH/MAF Plus v2 Translocation, Dual Fusion Probe ir kvalitatīvs, neautomatizēts luminiscētās in situ hibridizācijas (fluorescence in situ hybridisation — FISH) tests, kas paredzēts hromosomālo pārkārtojumu noteikšanai starp 14. hromosomas reģionu 14q32.3 un 16. hromosomas reģionu 16q23 Carnuā šķīdumā (3:1 metanols/etiķskābe) fiksētās hematoloģiski iegūtās šūnu suspensijās no pacientiem, kuriem ir konstatēta multiplā mieloma (MM) 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 IGH-MAF translokācijas statusu ir svarīga klīniskajai pārvaldībai.

#### Testa principi

Luminiscētā in situ hibridizācija (Fluorescence in situ hybridisation — FISH) ir metode, kas ļauj noteikt DNS sekvences metafāzu hromosomās vai interfāzes kodolos fiksētiem citoģenētiskiem paraugiem. Šajā metodē tiek izmantotas DNS zondes, kas hibridizējas ar veselām 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 solidu audzēju hromosomālajā analīzē. Mērķa DNS pēc fiksācijas un denaturēšanas ir pieejama hibridizācijai ar līdzīgi denaturētu, luminiscējošu marķētu DNS zondi, kurai ir papildu sekvence. Pēc hibridizācijas nesaisītā 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

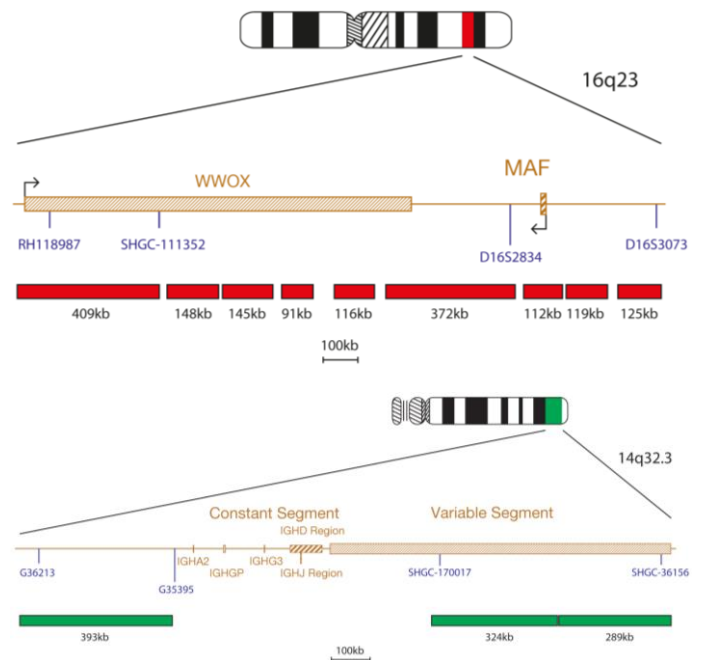
MAF (*MAF bZIP transkripcijas faktora*) gēna atrašanās vieta ir 16q23 un IGH (*imūnglobulīna smagās ķēdes lokusa*) gēna atrašanās vieta ir 14q32.3. Aptuveni 50–60% multiplās mielomas (MM) gadījumu ir saistīti ar translokācijām, kurās iesaistīts IGH un viens no vairākiem partneriem, tostarp *CCND1*, *NSD2* (*WHSC1*) un *FGFR3*, *CCND3*, *MAF* vai *MAFB*<sup>1</sup>. Jānorāda, ka t(14;16)(q32.3;q23) translokācija ir atkārtota translokācija, kas konstatējama 2–10% no MM gadījumu<sup>1</sup>.

Vairākums pārtraukumpunktu rodas pēdējā *WVVOX* (*oksireduktāzi saturošā WVVOX domēna*) intronā, centromēriski attiecībā pret *MAF*. Šie pārtraukumpunkti divējādi ietekmē IGH pastiprinātāja pozīciju *MAF* tuvumā un *WVVOX* gēna pārtraukšanu. Mielomas šūnu līniju gēnu ekspresijas profilēšana atklāja, ka *MAF* izraisa ciklīna D2 (šūnu cikla progresijas promotera) transaktivāciju, tādējādi pastiprinot mielomas šūnu proliferāciju<sup>3</sup>.

Saskaņā ar literatūru MM pacientiem, kuriem ir konstatējama t(14;16), slimības norise ir agresīvāka<sup>4,5</sup>.

#### Zondes specifikācija

MAF, 16q23, sarkana  
IGH, 14q32.3, zaļa



IGH/MAF Plus v2 translokācija, zonde Dual Fusion Probe sastāv no IGH zonu kopuma, kas marķēta zaļā krāsā, nosedz reģionus, kas ir proksimāli konstantes segmentam un atrodas IGH reģiona un MAF zonu kopuma variablajā segmentā, kas marķēts sarkanā krāsā un kas ietver MAF gēnu un blakusesošos reģionus, kā arī *WVVOX* gēnu.

#### Nodrošinātie materiāli

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

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

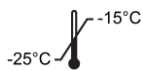
**Kontrasta krāsviela:** 150 µl flakonā (15 testi)

Kontrasta krāsviela ir DAPI luminiscences uzturēšanas šķīdums (ES: 0,125 µg/ml DAPI (4,6-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 maisījums 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 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/kļūdaini negatīvi rezultāti.

## Glabāšana un apiešanās



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



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

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

Ir jāizmanto kalibrēts aprīkojums.

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 vanna ar precīzu temperatūras regulēšanu — 37 °C un 72 °C
4. Mikrocentrifūgas mēģenes (0,5 ml)
5. Luminiscences mikroskops (sk. sadaļu Ieteikumi attiecībā uz luminiscences mikroskopu)
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. Luminiscencei atbilstoša mikroskopa objektīva iegremdēšanas eļļa
12. Galdā centrifūga
13. Mikroskopa priekšmetstikliņš
14. 24x24 mm segstikliņš
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

## Reagenti, kas ir nepieciešami, bet nav ietverti komplektācijā

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

## Ieteikumi attiecībā uz luminiscences mikroskopu

Lai nodrošinātu optimālu vizualizāciju, izmantojiet 100 W dzīvsudraba spuldzi vai ekvivalentu gaismas avotu un eļļā iegremdējamus 60/63x vai 100x objektīvus. Šajā zonā kompleksā 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 norādītā garuma viļņiem atbilstošiem ierosmes un izstarošanas filtriem. Lai nodrošinātu optimālu zaļo un sarkano fluoroforu vienlaicīgu vizualizāciju, izmantojiet trīsoļnu DAPI/zaļā spektra/sarkanā spektra filtru vai divļošu zaļā spektra/sarkanā spektra filtru.

Pirms lietošanas pārbaudiet luminiscences mikroskopu, lai pārliecinātos, vai tas darbojas pareizi. Izmantojiet iegremdēšanas eļļu, kas piemērota luminiscences mikroskopijai un nodrošina zemu autoluminiscences līmeni. Nepieļaujiet DAPI luminiscences uzturēšanas šķīduma sajaukšanos ar mikroskopa iegremdēšanas 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 šķīdumā (3:1 metanols/etiķskābe) fiksatorā un ir sagatavotas atbilstoši laboratorijā vai iestādē spēkā esošajām vadlīnijām. Sagatavojiet gaisā nožāvētus paraugus uz mikroskopa priekšmetstikliņiem atbilstoši standarta citoģenētiskajām procedūrām. AGT *citoģenētiskās laboratorijas rokasgrāmata* ir ietverti ieteikumi par paraugu ņemšanu, kultūras, ievākšanu un priekšmetstikliņu sagatavošanu<sup>7</sup>.

## Šķīdumu sagatavošana

### Etanola šķīdumi

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

- 70% etanols — 7 daļas 100% etanola ar 3 daļām attīrīta ūdens
  - 85% etanols — 8,5 daļas 100% etanola ar 1,5 daļām 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. Glabājiet šķīdumu līdz pat 4 nedēļām 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. Glabājiet šķīdumu līdz pat 4 nedēļām 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. Glabājiet šķīdumu līdz pat 4 nedēļām istabas temperatūrā hermētiski noslēdzamā konteinerā.

## Luminiscētās in situ hibrizācijas 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 nosūkt. (**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 etandā 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 vienlīdzīgi samaisīts.
7. Paņemiet 10 µl zondes šķīduma katram testam un pārnesiet to uz mikrocentrifūgas mēģeni. Atlikušo zondes šķīdumu nekavējoties ievietojiet atpakal 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.

### Hibrizācija

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

### Skalošana pēc hibrizācijas

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 šķīdumu no priekšmetstikliņa un iegremdējiet to 2xSSC, 0,05% Tween-20 šķīdumā istabas temperatūrā (pH 7,0) uz 30 sekundēm nemaisot.
16. Noteciniet šķīdumu no priekšmetstikliņa un katram paraugam pievienojiet 10 µl DAPI luminiscences uzturēšanas līdzekli.
17. Uzlieciet segstikliņu, likvidējiet burbulus un ļaujiet krāsai tumsā attīstīties 10 minūtes.
18. Skatiet luminiscences mikroskopā (sk. **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

1. Priekšmetstikliņu karsēšana vai novecošana var samazināt signāla luminiscenci.
2. Tādu reagentu izmantošana, kas nav uzņēmuma CytoCELL Ltd. nodrošinātie vai ieteiktie reagenti, var nelabvēlīgi ietekmēt hibrizācijas apstākļus.
3. Šķīdumu, ūdens vannu un inkubatoru temperatūras mērīšanai jāizmanto kalibrēts termometrs, jo norādītās temperatūras ievērošana ir kritiski svarīga produkta optimālas veikspējas 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 hibrizācijas dēļ iespējams papildu vai neparedzēti signāli.
7. Pirms testa izmantošanas diagnostikas nolūkiem lietotājiem 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

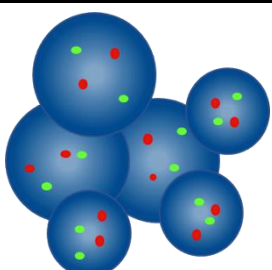
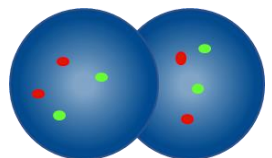
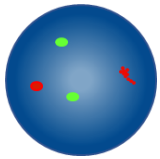
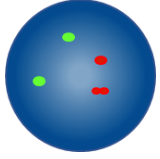
### Sagatavotā priekšmetstikliņa ar paraugu kvalitātes novērtēšana

Paraugu nedrīkst analizēt tālāk norādītajos gadījumos.

- Signāli ir pārāk vāji analizēšanai atsevišķos filtrros — lai veiktu analīzi, signāliem jābūt spilgtiem, labi izšķiramiem un viegli novērtējamiem.
- Ir daudz salīpušu/pārklājošos šūnu, kas traucē veikt analīzi.
- >50% šūnu nav hibridizētas.
- Starp šūnām atrodas pārāk daudz luminiscējošo daļiņu un/vai luminiscējošs aizmiglojums, kas rada signāla traucējumus, — optimālā priekšmetstikliņā ar paraugu fonam jābūt tumšam vai melnam un tīram.
- Šūnu kodolu robežas nav izšķiramas un nav veselās.

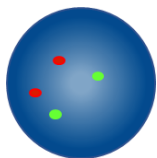
### Uz analīzi attiecināmās vadlīnijas

- Katra parauga analīze ir interpretēšana 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 attālumš 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 — atstarpē vienā sarkanajā signālā ir mazāka nekā divi zondes platumi

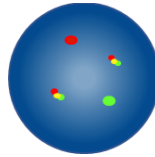
### Paredzamie rezultāti

#### Paredzamais normālo signālu modelis



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

### Paredzamais anormālo signālu modelis



Šūnā ar t(14;16)(q32.3;q23) translokāciju paredzamais signālu modelis ir viens sarkans, viens zaļš un divas fūzijas (1R, 1G, 2F).

Citi signālu modeļi ir iespējami aneiploīdos/nelīdzsvarotos paraugos. Ņemiet vērā, ka citu tādu IGH pārkārtojumu gadījumā, kas nav IGH/MAF translokācija, zaļais IGH signāls var izskatīties sadalīts.

### Zināmā krusteniskā reakcija

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

### Ziņošana par nevēlamam notikumiem

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

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

### Specifiskās veikspējas raksturlielumi

#### Analitiskais specifiskums

Analitiskais specifiskums tiek definēts kā to signālu procentuālā vērtība, kas hibridizējas uz pareizo lokusu un nekādu citu vietu. Katrā no divdesmit metafāzes šūnām no pieciem paraugiem tika analizēti četri hromosomu lokusi, dodot 400 datu punktus. Katras hibridizētās zondes atrašanās vieta ir kartēta, un ir ierakstīts metafāzes hromosomu luminiscētās in situ hibridizācijas (Fluorescence in situ hybridisation — FISH) signālu skaits, kas hibridizējās uz pareizo lokusu.

Katras komplekta zondes analītiskais specifiskums tika aprēķināts kā metafāzes hromosomu FISH signālu skaits, kas hibridizējās uz pareizo lokusu, dalīts ar kopējo metafāzes hromosomu FISH signālu kopējo skaitu, šis rezultāts tika sareizināts ar 100, izteikts kā procentuālā vērtība un dots ar 95% pārļiecības intervālu.

1. tabula. Zondes IGH/MAF v2 Translocation, Dual Fusion Probe analītiskais specifiskums

Mārķis	Hibridizēto metafāzes hromosomu skaits	Pareizi hibridizēto lokusu skaits	Analitiskais specifiskums	95% ticamības intervāls
14q32.3	200	200	100%	98,12%–100%
16q23	200	200	100%	98,12%–100%

#### Analitiskais jutīgums

Analitiskais jutīgums tiek izteikts kā novērtējama interfāzes šūnu ar paredzamu normālo signālu modeli procentuālā vērtība. Katram no 25 kariotipiski parastiem fiksētiem kaula smadzeņu paraugiem vai kaula smadzeņu paraugiem, kas ir negatīvi IGH pārkārtojuma un 25 IGH negatīvu CD138+ šūnu paraugiem tika analizētas vismaz 200 starpfāzes šūnas, rezultātā sniedzot vismaz 5000 kodolus katram parauga tipam. Jutīguma dati tika analizēti, pamatojoties uz šūnu procentuālo vērtību, kas parāda parastu paredzamo signālu modeli un tiek izteikti kā procentuālā vērtība ar 95% pārļiecības intervālu.

2. tabula. Zondes IGH/MAF v2 Translocation, Dual Fusion Probe analītiskais jutīgums

Parauga tips	Jutīguma kritēriji	Jutīguma rezultāti
Kaula smadzenes	>95%	98,76% ± 0,55%
CD138+	>95%	96,64% ± 1,17%

#### Normalitātes robežvērtību raksturojums

Normalitātes robežvērtība tiek definēta kā to šūnu procentuālā vērtība, kas uzrāda aplami pozitīvu signālu modeli, kurā indivīds tiktu uzskatīts par normalitāti un neatbilstošs klīniskajai diagnozei. Katram no 25 kariotipiski parastiem fiksētiem kaula smadzeņu paraugiem vai kaula smadzeņu paraugiem, kas ir negatīvi IGH pārkārtojuma un 25 IGH negatīvu CD138+ šūnu paraugiem tika analizētas vismaz 200 starpfāzes šūnas, rezultātā sniedzot vismaz 5000 kodolus katram parauga tipam.

Robežvērtība tika noteikta, programmā MS Excel izmantojot  $\beta$  inversijas (BETAINV) funkciju. Tā tika aprēķināta kā starpfāžu šūnu procentuālā vērtība, kas uzrāda aplami pozitīvu signālu modeli, izmantojot binomiālās izplatības vienpusējās 95% pārļiecības intervāla augšējo robežu normalitātes pacienta paraugā.

3. tabula. Zondes IGH/MAF v2 Translocation, Dual Fusion Probe normalitātes robežvērtību raksturojums

Parauga tips	Robežvērtības rezultāts
Kaula smadzenes	1,5%
CD138+	2,5%

### Precizitāte

Šī izstrādājuma precizitāte ir izmērīta dienas precizitātes (no parauga uz paraugu), starpdienu precizitātes (no dienas uz dienu) un vienas vietas starppartiņu precizitātes (no partijas uz partiju) izteiksmē.

Lai novērtētu šī izstrādājuma precizitāti, tika izmantoti trīs paraugi: viens bija normalitātes kaula smadzeņu paraugs (summēts no 25 individuāliem paraugiem), viens bija normalitātes CD138+ paraugs (summēts no 28 individuāliem paraugiem) un viens nedaudz pozitīvs CD138+ paraugs (2–4x no produkta robežvērtības, izveidots, sabojājot normalitātes CD138+ paraugu ar zināmu pozitīvo), kas tika izmantots, lai pārbaudītu izstrādājumu ap noteiktajām robežvērtībām.

Lai noteiktu starpdienu un dienas precizitāti, paraugi tika izvērtēti piecu neseģu datumu laikā, un, lai noteiktu precizitāti no partijas uz partiju, trīs izstrādājuma partijas tika novērtētas ar vienu un tā paša parauga četriem replikātiem. Rezultāti tika pasniegti kā vispārēja konverģence ar prognozētu negatīvo klasi (negatīviem paraugiem).

#### 4. tabula. Zondes IGH/MAF v2 Translocation, Dual Fusion Probe reproducējamība un precizitāte

Mainīgais	Parauga tips	Konverģence
Dienas un starpdienu precizitāte	Normalitātes kaula smadzenes (negatīvas)	100%
	Normalitāte CD138+ (negatīva)	100%
	Nedaudz pozitīvs CD138+	100%
Precizitāte no partijas uz partiju	Normalitātes kaula smadzenes (negatīvas)	100%
	Normalitāte CD138+ (negatīva)	100%
	Nedaudz pozitīvs CD138+	100%

### Klīniskā veiktspēja

Lai nodrošinātu to, ka izstrādājums konstatē paredzētos pārkātojumus, klīniskā veiktspēja tika noteikta divos pētījumos par produkta paredzētās populācijas reprezentējošiem paraugiem: viens, izmantojot CD138+ eksemplārus, un viens, izmantojot kaula smadzeņu eksemplārus. Katra pētījuma parauga lielums bija divdesmit eksemplāri ar piecu IGH-MAF pozitīvu eksemplāru sajaukumu un piecpadsmit IGH-MAF negatīvu eksemplāru sajaukumu mērķa populāciju. Visi paraugi tika padarīti neidentificējami un tika sajaukti, lai novērstu analīzes neobjektivitāti. Rezultāti tika salīdzināti ar zināmo parauga statusu. Zonde pareizi noteica paraugu statusu visās instancēs.

Šo testu rezultāti tika analizēti, lai nodrošinātu klīnisku jutīgumu, klīnisku specifiskumu un kļūdaini pozitīvo rezultātu rādītāja (false positive rate — FPR) vērtības pozitīviem signāliem, izmantojot viendimensijas pieeju.

#### 5. tabula. Zondes IGH/MAF v2 Translocation, Dual Fusion Probe klīniskā veiktspēja

Mainīgais	Rezultāts
Klīniskais jutīgums (pareizi pozitīvo rezultātu rādītājs (true positive rate — TPR))	98,1%
Klīniskais specifiskums (pareizi negatīvo rezultātu rādītājs (true negative rate — TNR))	100%
Kļūdaini pozitīvo rezultātu rādītājs (false positive rate — FPR) = 1 – specifiskums	0%

### Papildinformācija

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

Tālr.: +44 (0)1223 294048

E-pasts: techsupport@cytozell.com

Timeklī: www.ogt.com

### Atsauces

- Fonseca *et al.*, Cancer Res 2004;64:1546-1558
- Walker *et al.*, Blood 2013;121(17):3413-3419
- Chang H *et al.*, Leukemia 2007;21:1572-1574
- Fonseca *et al.*, Leukemia 2009;23(12):2210-2221
- Sawyer, Cancer Genetics 2011;204(1):3-12
- 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

ATS.	Iv: Kataloga numurs
	Iv: <i>In vitro</i> diagnostikai paredzēta medicīnas ierīce
	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
	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  
Timeklī: www.ogt.com

