



A Sysmex Group Company



Lietošanas instrukcija

ATS.: CE-LPH 108-S / CE-LPH 108

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



TIKAI PROFESIONĀLAM LIETOJUMAM



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

### Paredzētais lietošanas mērķis

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 Karnuā šķīdumā (3:1 metanols/etiķskābe) fiksētās hematoloģiski iegūtās šūnu suspensijās no pacientiem, kuriem ir konstatēta multiplā mieloma (MM) vai pastāv aizdomas par tās esamību.

### Lietošanas indikācijas

Šis ierīce ir paredzēta kā citu klīnisko un histopatoloģisko testu papildinājums atzītās diagnostikas un klīniskās aprūpes metodēs, kad informācija par IGH::MAF translokācijas statusu ir svarīga klīniskajai pārvaldībai.

### Ierobežojumi

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

Šī ierīce nav paredzēta: izmantošanai autonoma diagnostikas līdzekļa statusā, papildu diagnostikas nolūkā, prenatalai testēšanai, konkrētu populāciju skrīningam, testēšanai ārpus laboratorijas un paštestēšanai.

Šī ierīce nav validēta paraugu tiem, slimību tiem vai mērķiem, kas neatbilst paredzētajam lietošanas mērķim.

Tā ir paredzēta kā citu diagnostisko laboratorijas testu palīg līdzeklis, un lēmumus par terapiju nedrīkst pieņemt, vadoties tikai pēc FISH testa rezultātiem.

Ziņošana par FISH testa rezultātiem un to interpretēšana ir jāveic atbilstoši kvalificētam personālam saskaņā ar profesionālajiem prakses standartiem, un ir jāņem vērā citu testu rezultāti, klīniskā un diagnostikas informācija.

Šī ierīce ir paredzēta tikai profesionālam lietojumam laboratorijā.

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

### Testa principi

Luminiscētā *in situ* hibridizācija (fluorescence in situ hybridisation — FISH) ir metode, kas ļauj noteikt DNS sekvences metafāzu hromosomās vai interfāzes kodolos fiksētiem citogenētiskiem paraugiem. Šajā metodē tiek izmantotas DNS zondes, kas hibridizējas ar veselām hromosomām vai atsevišķām unikālām sekvencēm un kalpo kā efektīvs G joslu citogenētiskās 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 DNS zonde tiek aizvākta un DNS tiek kontrastēta

vizualizācijai. Pēc tam, izmantojot luminiscences mikroskopiju, hibridizēto zondi var vizualizēt mērķa materiālā.

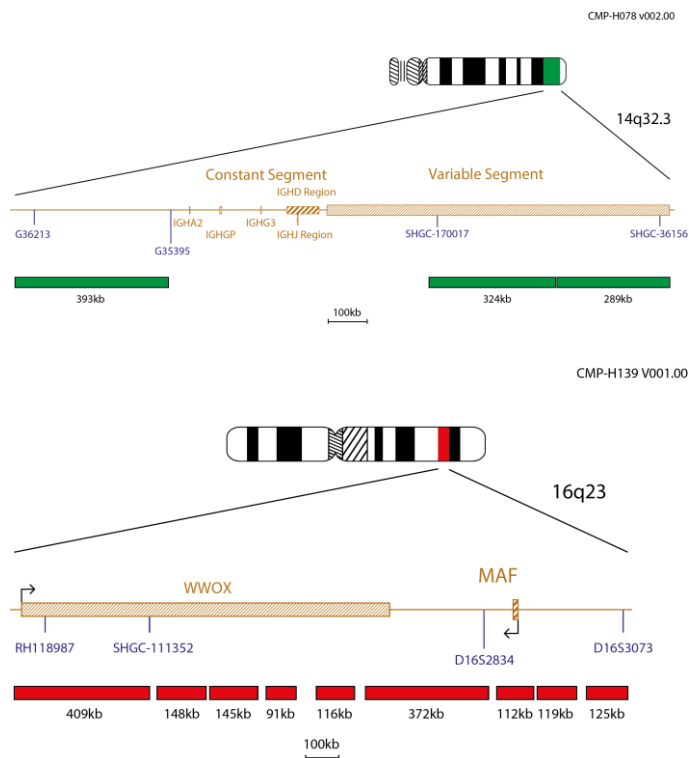
### Informācija par zondi

MAF (MAF bZIP transkripcijas faktors) gēna atrašanās vieta ir 16q23, un IGH (imūnglobulīna smagās ķēdes lokuss) 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% MM gadījumu<sup>1</sup>. Vairākums pārtraukumpunktu rodas pēdējā WWOX (oksireduktāzi saturošais WW domēns) intronā centromēriski attiecībā pret MAF. Šie pārtraukumpunkti divējādi ietekmē IGH pastiprinātāja pozīciju MAFtūvmā un WWOX gēna pārtraukšanu<sup>2</sup>. Mielomas šūnu līniju gēnu ekspresijas profilēšana atklāja, ka MAF izraisa ciklīna D2 (šūnu cikla progresijas promoters) 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

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



Zonde IGH/MAF Plus v2 Translocation, Dual Fusion Probe sastāv no IGH zonžu kopuma, kas marķētas zaļā krāsā, nosedz reģionus, kas ir proksimāli konstantes segmentam un atrodas IGH reģiona un MAF zonžu kopuma variabla segmentā, kas marķēts sarkanā krāsā un kas ietver MAF gēnu un blakusesošos reģionus, kā arī WWOX gēnu.

### Nodrošinātie materiāli

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

Zondes tiek nodrošinātas iepriekš sajauktā veidā hibridizācijas šķīdumā (< 65% formamīds; < 20 mg dekskābe sulfāts; < 10% 20x citrāta fizioloģiskais šķīdums (salīne-sodium citrate — SSC)) un ir gatavas lietošanai.

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

Kontrasta krāsviela ir DAPI luminiscences uzturēšanas šķīdums ES (0,125 μg/ml DAPI (4,6-diamidino-2-fenilindols) šķīdumā uz glicerīna bāzes).

### Brīdinājumi un piesardzības pasākumi

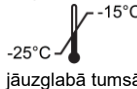
1. Lietošanai *in vitro* diagnostikā. Tikai profesionālam lietojumam laboratorijā.
2. Zondes maisījums ietilpst formamīds, kas ir teratogēns, tādēļ nedrīkst pieļaut to izgarojumu ieelpošanu un nonākšanu saskarē ar ādu. Rīkojieties ar to piesardzīgi; valkājiet cimdus un laboratorijas virsvalku.
3. Rīkojieties ar DAPI piesardzīgi; valkājiet cimdus un laboratorijas virsvalku.
4. Nelietot, ja flakons(-) ir bojāts(-) vai flakona saturs jebkādā veidā ir bojāts.
5. Izpildiet vietējos utilizācijas noteikumus, kā arī drošības datu lapā sniegtos ieteikumus par drošu šī produkta utilizāciju. Tas attiecas arī uz bojātu testa komplekta saturu.
6. Utilizējiet visus izmantotos reaģentus un jebkādos citus piesārņotus vienreizlietojamus materiālus, ievērojot procedūras attiecībā uz infekcioziem vai potenciāli infekcioziem atkritumiem. Katra laboratorija ir atbildīga par rīcību ar cietajiem un šķidrājiem atkritumiem atbilstoši to veidam un bīstamības pakāpei, kā arī par to apstrādi un utilizāciju (līdz šim un turpmāk) saskaņā ar spēkā esošajiem noteikumiem.
7. Operatoriem jāspēj atšķirt sarkano un zaļo krāsu.
8. Neievērojot norādīto protokolu un norādījumus par reaģentiem, var tikt ietekmēta veikspēja un iegūti kļūdaini pozitīvi/negatīvi rezultāti.

- Zondi nedrīkst atšķaidīt vai veidot maisījumus ar citām zondēm.
- Ja protokola priekšdenaturēšanas fāzes laikā netiek izmantoti 10 µl no zondes, var tikt ietekmēta veikspēja un iegūti kļūdaini pozitīvi/negatīvi rezultāti.
- Pirms lietošanas visi produkti ir jāapstiprina.
- Iekšējās kontroles jāveic, testēšanas paraugos izmantojot neietekmētas šūnu populācijas.

#### Temperatūras definīcijas

- 20 °C/sasaldēts/saldētavā: No -25 °C līdz -15 °C
- 37 °C: +37 °C ± 1 °C
- 72 °C: +72 °C ± 1 °C
- 75 °C: +75 °C ± 1 °C
- Istabas temperatūra (Room Temperature — RT): No +15 °C līdz +25 °C

#### Uzglabāšana un apiešanās

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



FISH zonde, DAPI Antifade ES kontrastviela un hibridizācijas šķīdums paliek stabili visos sasaldēšanas-atkausēšanas ciklos parastās lietošanas laikā (kur viens cikls ir flakona izņemšana no saldētavas un ievietošana tajā atpakaļ) — 5 cikli 50 µl (5 testi) FISH zondes flakonam, 10 cikli 100 µl (10 testi) FISH zondes flakonam un 15 cikli 150 µl (15 testi) kontrastvielas flakonam. Pēc iespējas jāsamazina gaismas iedarbība un jāizvairās no tās, kad vien iespējams. Uzglabājiet komponentus nodrošinātā gaismas necaurlaidīgajā konteinerā. Komponenti, kas izmantoti un uzglabāti apstākļos, kas nav norādīti marķējumā, var nedarboties, kā paredzēts, un tie var negatīvi ietekmēt analīzes rezultātus. 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.

- Sildierīce (ar cietu sildvirsmu un precīzu temperatūras regulēšanu līdz pat 80 °C)
- Kalibrētas dažāda tilpuma mikropipetes un uzgaļi 1–200 µl diapazonā.
- Ūdens vanna ar precīzu temperatūras regulēšanu 37 °C un 72 °C
- Mikrocentrifūgas mēģenes (0,5 ml)
- Luminiscences mikroskops (sk. sadaļu Uz luminiscences mikroskopu attiecināmie ieteikumi)
- Fāžu kontrasta mikroskops
- Tīri plastmasas, keramikas vai karstumizturīga stikla Koplina trauki
- Pincete
- Kalibrēta pH mērierīce (vai pH indikatora strēmeles, ar kurām var veikt mērījumus pH 6,5–8,0 diapazonā)
- Konteiners ar mitru vidi
- Luminiscencei atbilstoša mikroskopa objektīva iegremdēšanas 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 citrāta fizioloģiskais šķīdums (saline-sodium citrate — SSC)
- 100% etanols
- 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 gaismas avotu un eļļā iegremdējamus 60/63x vai 100x objektīvus. Šajā zonžu komplektā izmantotie fluorofori tiks ierosināti un izstaros tālāk norādītā garuma viļņos.

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

Nodrošiniet, lai mikroskops būtu aprīkots ar iepriekš norādītajiem viļņu garumiem atbilstošiem ierosmes un izstarošanas filtriem. Lai nodrošinātu optimālu zaļo un sarkano fluoroforu vienlaicīgu vizualizāciju, izmantojiet trisjoslu DAPI/zaļā spektra/sarkanā spektra filtru vai divjoslu 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. Izvairieties no DAPI luminiscences uzturēšanas šķīduma sajaukšanās ar mikroskopa iegremdēšanas

eļļu, jo pretējā gadījumā radīsies signāla traucējumi. Rīkojieties atbilstoši ražotāja ieteikumiem attiecībā uz lampas un filtru kalpošanas ilgumu.

#### Paraugu sagatavošana

Šis komplekts ir paredzēts izmantošanai ar hematoloģiski iegūtām šūnu suspensijām, kas fiksētas Karnuā šķīduma (3:1 metanols/etiķskābe) fiksatorā, no pacientiem, kuriem ir konstatēta multiplā mieloma (MM) vai pastāv aizdomas par tās esamību, un ir sagatavotas atbilstoši laboratorijā vai iestādē spēkā esošajām vadlīnijām. Sagatavojiet gaisā nožāvētus paraugus uz mikroskopa priekšmetstikliņiem atbilstoši standarta citoģenētiskajam procedūram. AGT *citoģenētiskas laboratorijas rokasgrāmata* ir ietverti ieteikumi par paraugu ņemšanu, kultūrēšanu, ievākšanu un priekšmetstikliņu sagatavošanu<sup>6</sup>.

#### Šķīdumu sagatavošana

##### Etanola šķīdumi

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

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

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

##### 2xSSC šķīdums

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

##### 0,4xSSC šķīdums

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

##### 2xSSC, 0,05% Tween-20 šķīdums

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

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

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

#### Priekšmetstikliņa sagatavošana

- Novietojiet šūnu paraugu uz mikroskopa priekšmetstikliņa, kas izgatavots no stikla. Ļaujiet nožūt. **(Pēc izvēles, ja izmanto citoģenētisko žāvēšanas kameru:** 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).
- Iegremdējiet priekšmetstikliņu 2xSSC šķīdumā istabas temperatūrā uz 2 minūtēm, neveicot maisīšanu.
- Veiciet dehidrēšanas etanolā sērijas (70%, 85% un 100%), katru 2 minūtes istabas temperatūrā.
- Ļaujiet nožūt.

#### Priekšdenaturēšana

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

#### Denaturēšana

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

#### Hibridizācija

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

## Ieteikumi attiecībā uz procedūru

1. Priekšmetstikliņu karsēšana vai novecošana var samazināt signāla luminiscenci.
2. Tādu reaģentu izmantošana, kas nav uzņēmuma CytoCELL Ltd. nodrošinātie vai ieteiktie reaģenti, var nelabvēlīgi ietekmēt hibridizācijas apstākļus.
3. Šķīdumu, ūdens vannu un inkubatoru temperatūras mērīšanai jāizmanto kalibrēts termometrs, jo norādītās temperatūras ievērošana ir kritiski svarīga produkta optimālas veiktspējas nodrošināšanai.
4. Skalošanas šķīdumu koncentrācijas, pH vērtības un temperatūras vērtības ir svarīgas, jo pārāk lielas pielaišanas gadījumā iespējama nespecifiska sasaiste, savukārt pārāk mazas pielaišanas gadījumā iespējama signāla nepietiekamība.
5. Nepilnīga denaturēšana var izraisīt signāla nepietiekamību, savukārt pārmērīga denaturēšana arī var izraisīt nespecifisku sasaisti.
6. Pārmērīgas hibridizācijas dēļ iespējami 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

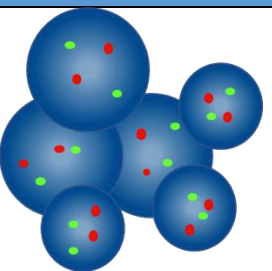
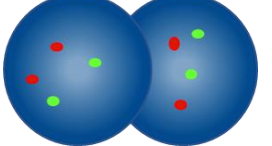
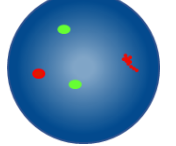
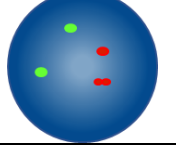
### Sagatavotā priekšmetstikliņa ar paraugu kvalitātes novērtēšana

Paraugu nedrīkst analizēt tālāk norādītajos gadījumos.

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

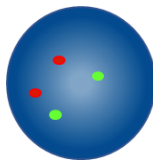
### Uz analīzi attiecināmās vadlīnijas

- 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 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 veseli kodoli, nevis pārklājošie kodoli, sablīvējušies kodoli vai kodoli, kuru 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 attālumā 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 — atstarpe vienā sarkanajā signālā ir mazāka nekā divi zondes platumi

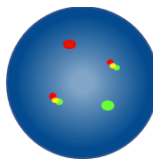
## Paredzamie rezultāti

### Paredzamais normālu signālu modelis



Normālā šūnā ir paredzami divi sarkani un divi zaļi signāli (2S2Z).

### Paredzamais anormālo signālu modelis



Šūnā ar t(14;16)(q32.3;q23) translokāciju paredzamais signālu modelis ir viens sarkans, viens zaļš un divas fūzijas (1S1Z2F).

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

### Zināmie būtiskie traucējumi/traucējošās vielas

Nav zināmu būtisku traucējumu/traucējošu vielu.

### Zināmā krusteniskā reakcija

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

### Ziņošana par nopietniem negadījumiem

Pacientam/lietotājam/trešajai personai Eiropas Savienībā un valstīs ar identisku tiesisko regulējumu (Regula (ES) 2017/746 par *In vitro* diagnostikas medicīniskām ierīcēm); ja šīs ierīces lietošanas laikā vai tās lietošanas rezultātā ir noticis nopietns negadījums, lūdzu, ziņojiet par to ražotājam un valsts atbildīgajai iestādei.

Attiecībā uz nopietniem negadījumiem citās valstīs, lūdzu, ziņojiet par to ražotājam un, ja paredzēts, savas valsts atbildīgajai iestādei.

Ražotāja uzraudzības kontaktinformācija: [vigilance@ogt.com](mailto:vigilance@ogt.com)

ES valstu kompetentajām iestādēm kontaktpersonu medicīnas ierīču kontroles jautājumos saraksts ir atrodams šajā vietnē:

[https://health.ec.europa.eu/medical-devices-sector/new-regulations/contacts\\_en](https://health.ec.europa.eu/medical-devices-sector/new-regulations/contacts_en)

### Specifiskās veiktspējas raksturlielumi

#### Analītiskais specifiskums

Analītiskais 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.

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% ticamības intervālu.

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

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

#### Analītiskais jutīgums

Analītiskais jutīgums tiek izteikts kā novērtējama interfāzes šūnu ar paredzamu normālo signālu modeli procentuālā vērtība. Katram no divdesmit pieciem (25) kariotipiski normāliem kaula smadzeņu paraugiem vai kaula smadzeņu paraugiem, kas ir negatīvi IGH::MAF pārkārtojumam un divdesmit piecām (25) IGH::MAF negatīvām CD138+ fiksētām šūnu suspensijām, kas iegūtas no pacientiem, kuriem ir konstatēta multiplā mieloma (MM) vai pastāv aizdomas par tās esamību, 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% ticamības intervālu.

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

Parauga tips	Jutīguma kritēriji	Jutīguma rezultāts
Kaula smadzenes	>95%	98,76% ± 0,55%
CD138+	>95%	96,46% ± 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 divdesmit pieciem (25) kariotipiski normāliem kaula smadzeņu paraugiem vai kaula smadzeņu paraugiem, kas ir negatīvi *IGH::MAF* pārkartojuma un divdesmit piecām (25) *IGH::MAF* negatīvām CD138+ fiksētām šūnu suspensijām, kas iegūtas no pacientiem, kuriem ir konstatēta multiplā mieloma (MM) vai pastāv aizdomas par tās esamību, 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% ticamības intervāla augšējo robežu normalitātes pacienta paraugā.

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

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

Laboratorijām jāveic robežvērtību verifikācija, izmantojot savus datus.<sup>7,8</sup>

### Precizitāte

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

Lai novērtētu šā produkta precizitāti, tika izmantoti trīs (3) 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, pievienojot standartpiedevu normalitātes CD138+ paraugam ar zināmu pozitīvo), kas tika izmantots, lai pārbaudītu izstrādājumu ap noteiktajām robežvērtībām.

Lai noteiktu starpdienu un dienas precizitāti, paraugi tika izvērtēti piecu neseģūgu 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 Plus 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 veikspēja

Lai nodrošinātu to, ka produkts konstatē paredzētos pārkārtojumus, klīniskā veikspēja tika noteiktavienā pētījumā produktam paredzētās populācijas reprezentējošiem paraugiem, izmantojot CD138+ un kaula smadzeņu paraugus. Pētījuma paraugu apjoms bija divdesmit kaulu smadzeņu paraugi un divdesmit CD138+ atdalīti plazmas šūnu paraugi, un mērķa populācija bija pieci *IGH::MAF* fūzijas pozitīvi paraugi un piecpadsmit *IGH::MAF* fūzijas negatīvi paraugi katram parauga tipam. Visi paraugi tika padarīti neidentificējami un tika sajaukti, lai novērstu analīzes neobjektivitāti. Rezultāti tika salīdzināti ar zināmo parauga statusu. Zonde pareizi noteica paraugu statusus 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 Plus v2* Translocation, Dual Fusion Probe klīniskā veikspēja

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

### Drošuma un veikspējas kopsavilkums (Summary of Safety and Performance — SSP)

SSP jābūt publiski pieejamam, izmantojot Eiropas medicīnisko ierīču datubāzi (Eudamed), kur tas ir saistīts ar pamata UDI-DI. Eudamed URL: <https://ec.europa.eu/tools/eudamed> Pamata UDI-DI: 50558449LPH108JL

Ja Eudamed nedarbojas pilnībā, SSP ir publiski pieejams pēc pieprasījuma pa e-pastu [SSP@ogt.com](mailto:SSP@ogt.com).

### Papildinformācija

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

Tālr.: +44 (0)1223 294048

E-pasts: [techsupport@cytozell.com](mailto:techsupport@cytozell.com)

Timeklī: [www.ogt.com](http://www.ogt.com)

### Atsauces

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.

### Simbolu glosārijs

EN ISO 15223-1:2021 — “Medicīniskās ierīces — simboli, kas jāizmanto kopā ar ražotāja nodrošināto informāciju — 1. daļa. Vispārīgās prasības” (© International Organization for Standardization)		
Simbols	Nosaukums	Atsauces numurs(-i)
	Iv: Ražotājs	5.1.1
	Iv: Pilnvarotais pārstāvis Eiropas Kopienā/Eiropas Savienībā	5.1.2
	Iv: Derīguma termiņš	5.1.4
	Iv: Partijas kods	5.1.5
	Iv: Kataloga numurs	5.1.6
	Iv: Sargāt no saules gaismas	5.3.2
	Iv: Temperatūras ierobežojums	5.3.7
	Iv: Skatīt lietošanas instrukciju	5.4.3
	Iv: Skatīt elektronisko lietošanas instrukciju	5.4.3
	Iv: Uzmanību!	5.4.4
	Iv: <i>In vitro</i> diagnostikas medicīniskā ierīce	5.5.1
	Iv: Saturs ir pietiekams <n> testiem	5.5.5
	Iv: Unikālais ierīces identifikators	5.7.10
EDMA simboli IVD reaģentiem un komponentiem, 2009. gada oktobra redakcija		
Simbols	Nosaukums	Atsauces numurs(-i)
	Iv: Sastāvs (vai saturs)	N/p

**Patenti un preču zīmes**

CytoCell ir reģistrēta CytoCell Limited preču zīme.

**CytoCell Limited**

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](mailto:probes@cytoCELL.com)

Tīmeklī: [www.ogt.com](http://www.ogt.com)

**Sysmex Europe SE**

Bornbarch 1  
22848 Norderstedt  
VĀCIJA

Tālr.: +49 40 527260

Tīmeklī: [www.sysmex-europe.com](http://www.sysmex-europe.com)

**Lietošanas instrukcijas variantu vēsture**

V001.00 2023-01-11: Jauna lietošanas instrukcija atbilstoši Regulai (ES) 2017/746.