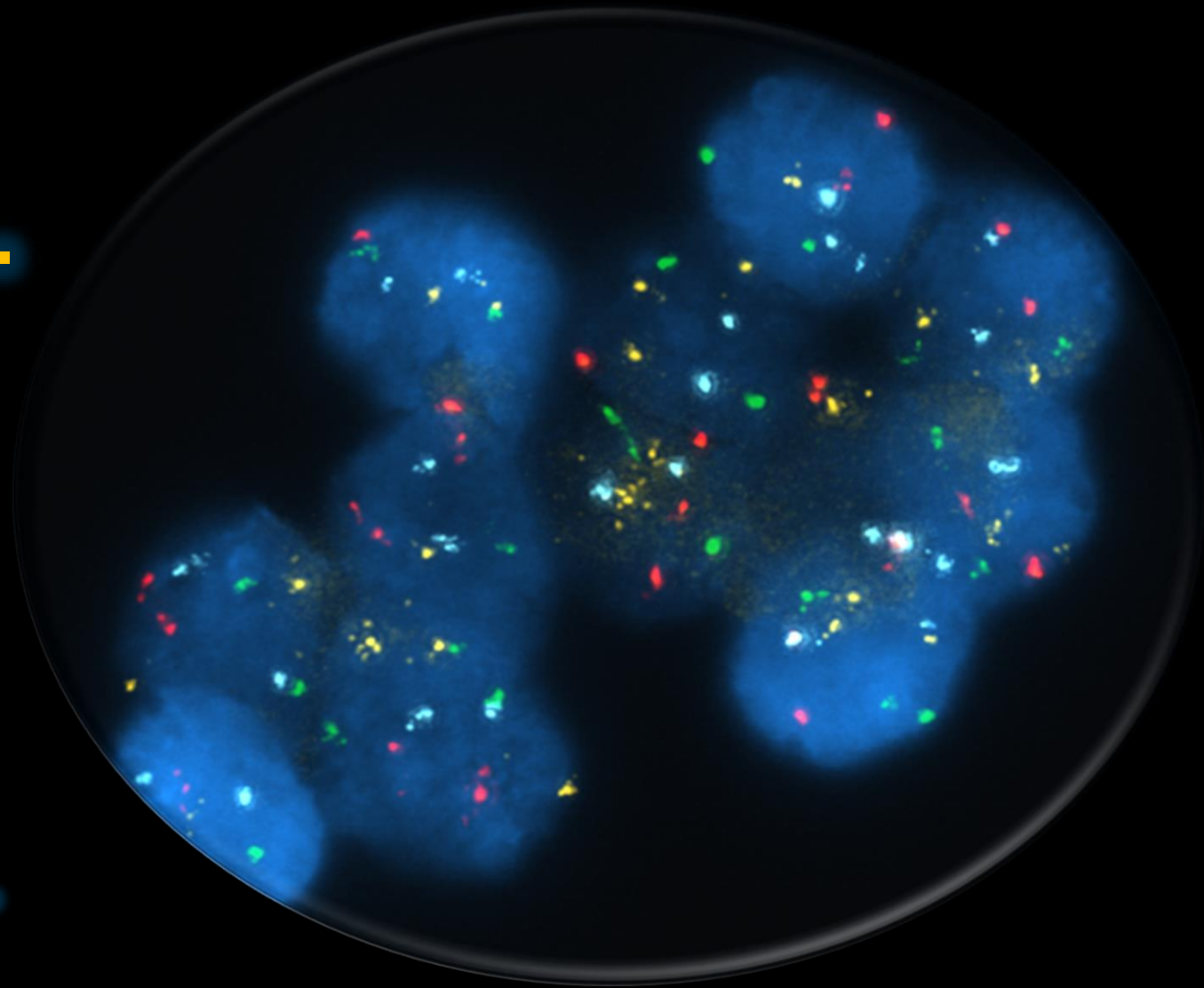


# UROVYSION- FISH

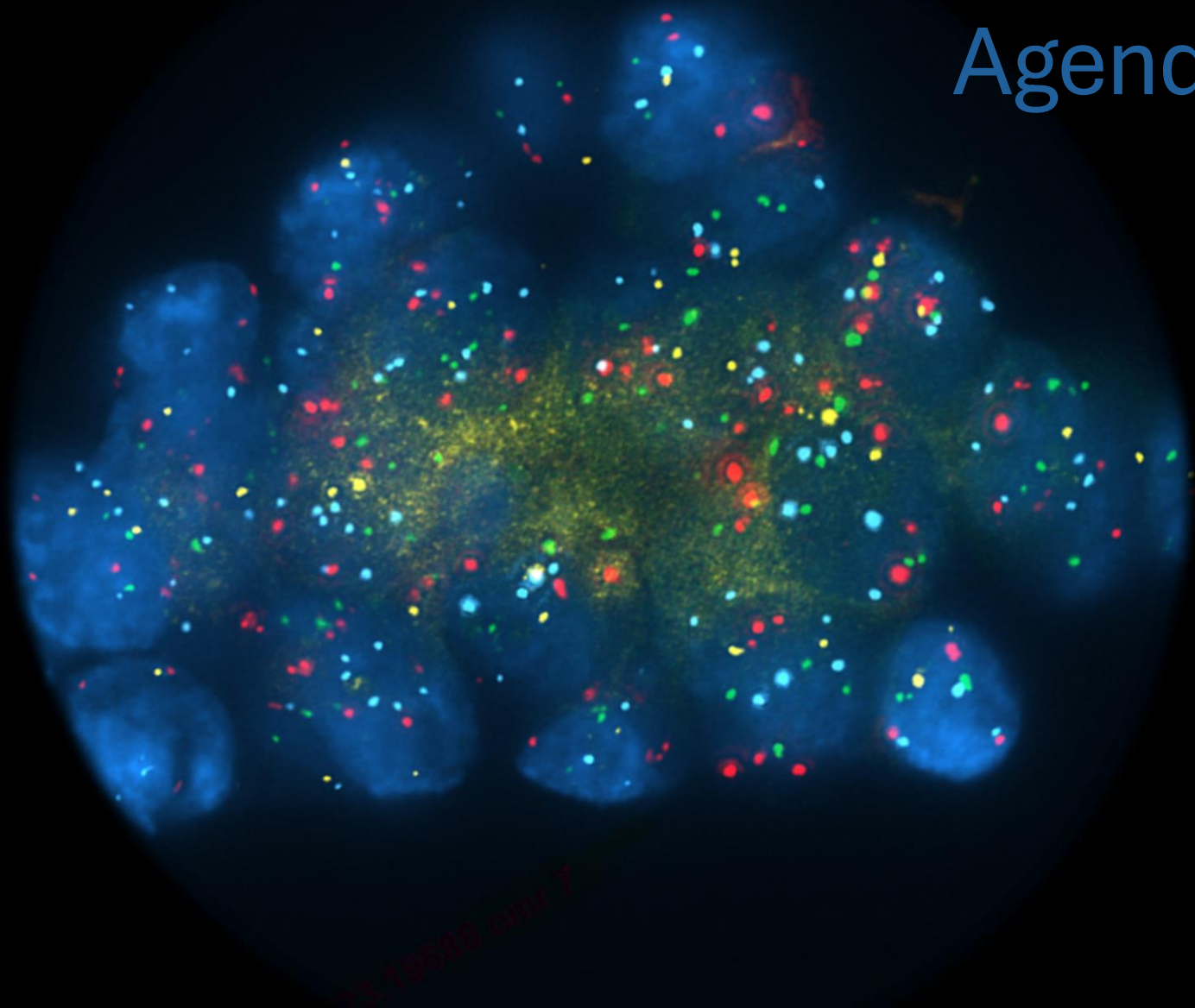
Mikaela Ström

Leg. Biomedicinsk analytiker  
Klinisk genetik Umeå



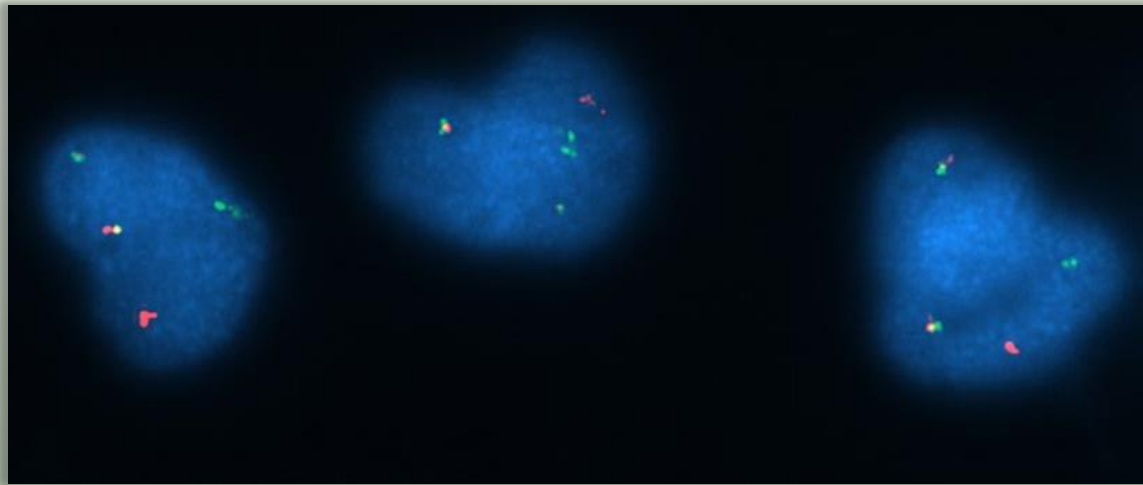
# Agenda för presentationen

- Genetik och FISH
- FISH inom cytologin
  - Metodutveckling
- Analysens utmaningar

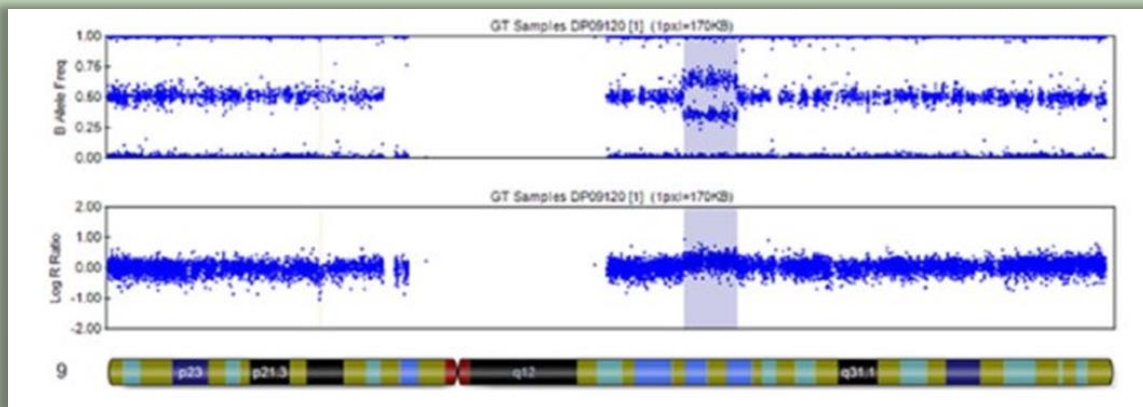




# Genetikens utveckling



FISH-analys

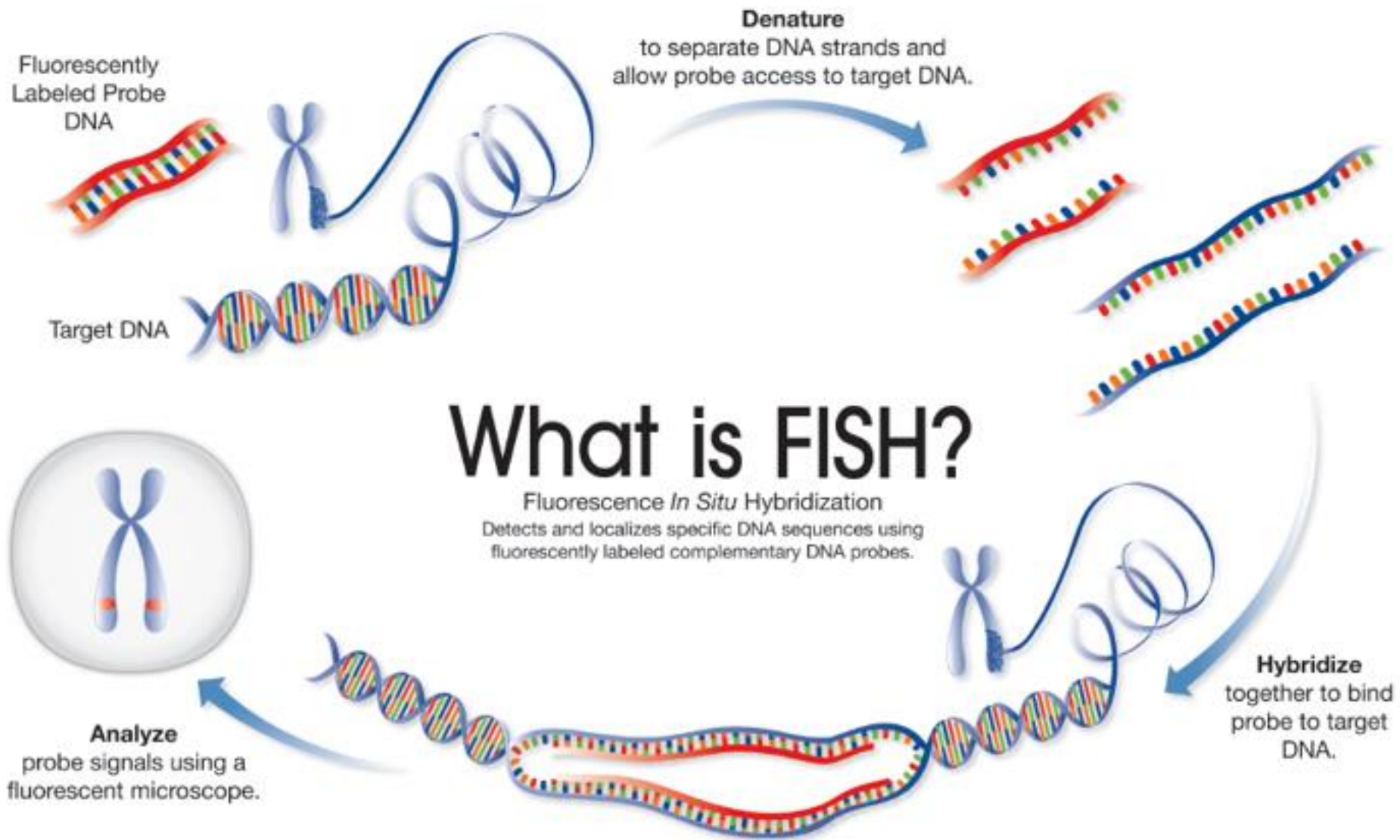


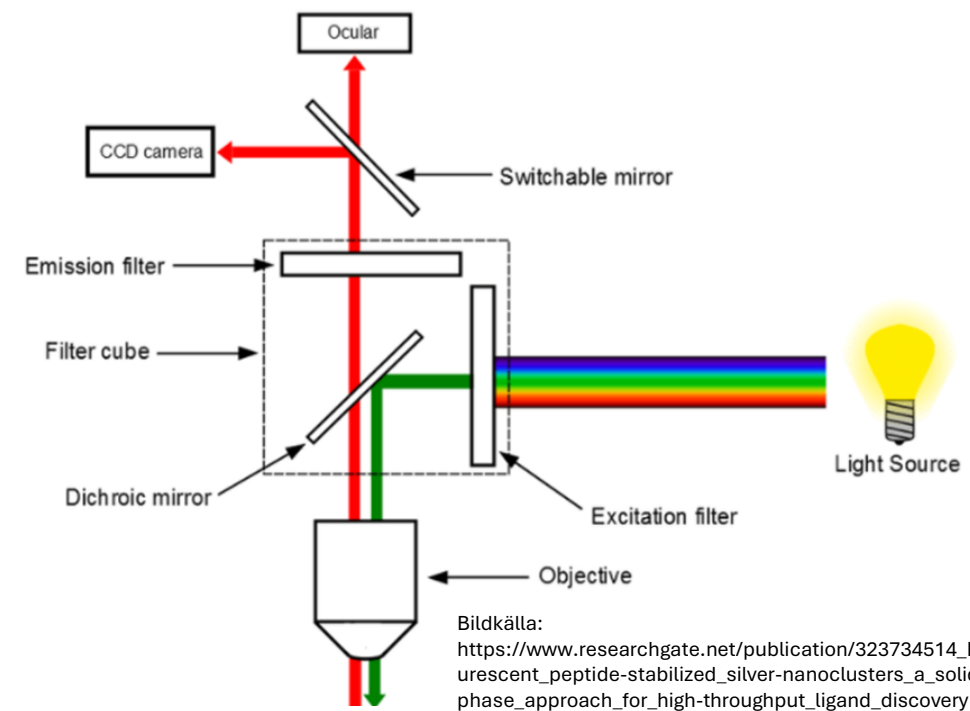
Array-baserad analys



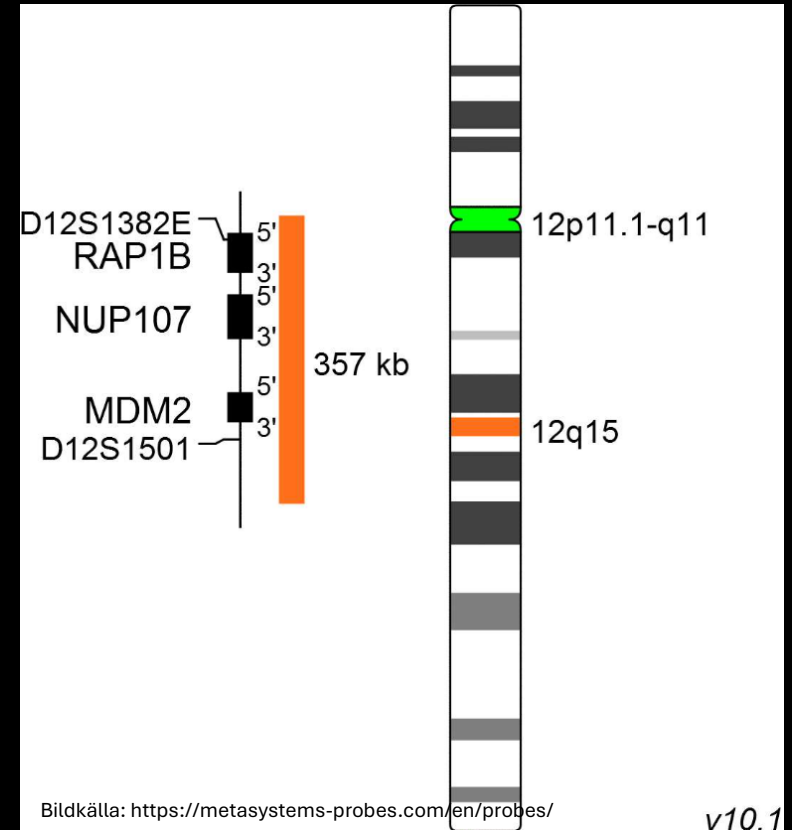
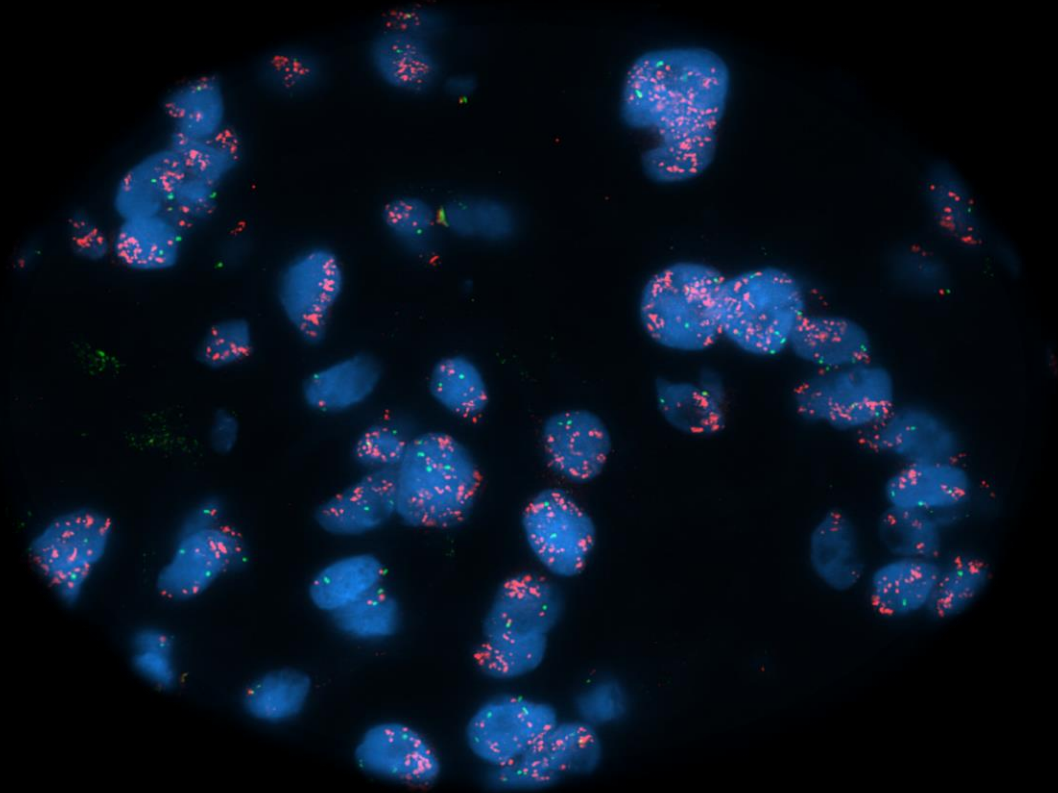
NovaSeq-sequenator för WGS och paneler

Bildkälla: <https://ngisweden.scilifelab.se/technologies/illumina/novaseq-x-plus/>



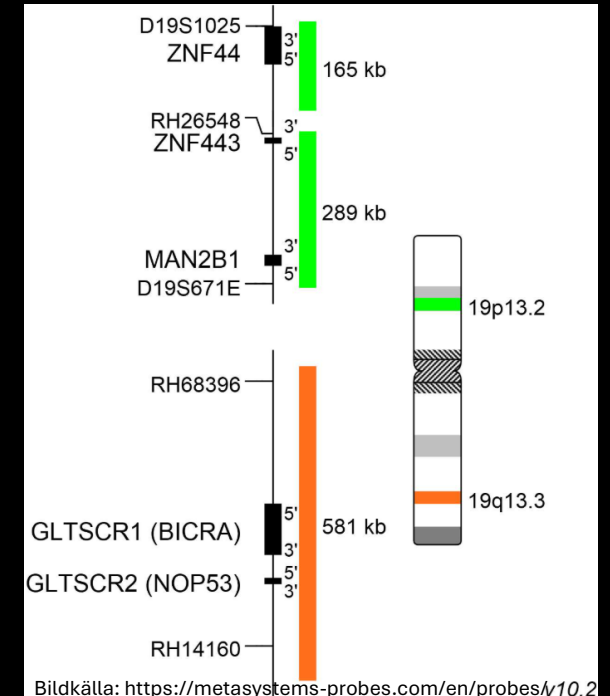
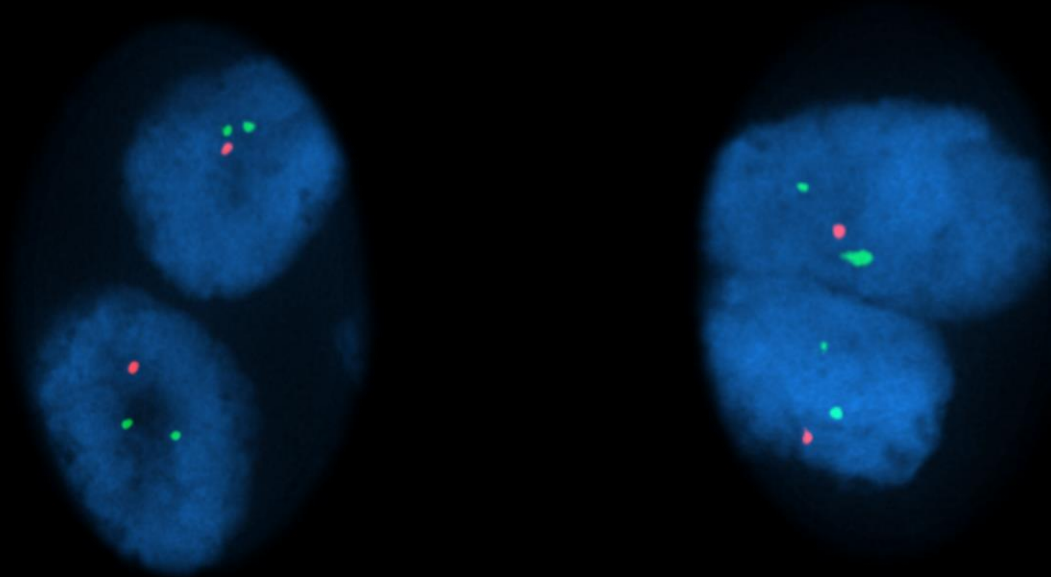
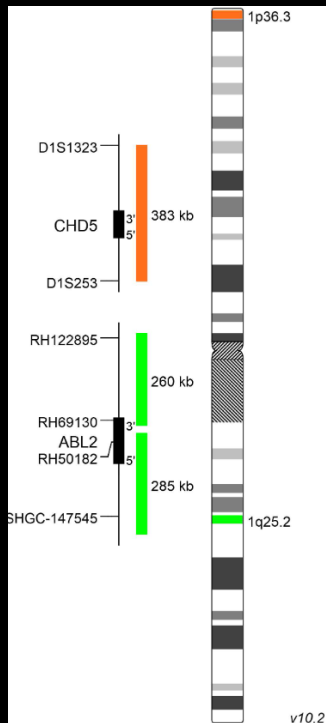


# Exempel på applikationer av FISH-analys



MDM2-amplifikation som diagnosticerar liposarkom

# Exempel på applikationer av FISH-analys



Bildkälla: <https://metasystems-probes.com/en/probes/v10.2>

Bildkälla: <https://metasystems-probes.com/en/probes/>

Analys av deletion på kromosom 1q samt 19p, vilka tillsammans diagnosticerar oligodendrogliom

# Fördelar med FISH

- Snabb turn-around-tid
- Relativt billig analys
- Kan se subklonalitet
- Arbetar på cellnivå
- Kan arbeta med små mängder tumör



# FISH och urincytologi

Känslighet (sensitivity): Förmågan att identifiera sant positiva fall

Specificitet: Förmågan att identifiera sant negativa fall

Patienten har faktiskt sjukdomen

Positivt test

**SANT  
POSITIV**

Negativt test

**FALSKT  
NEGATIV**

Patienten har inte sjukdomen

**FALSKT  
POSITIV**

**SANT  
NEGATIV**





## The Development of a Multitarget, Multicolor Fluorescence *in Situ* Hybridization Assay for the Detection of Urothelial Carcinoma in Urine

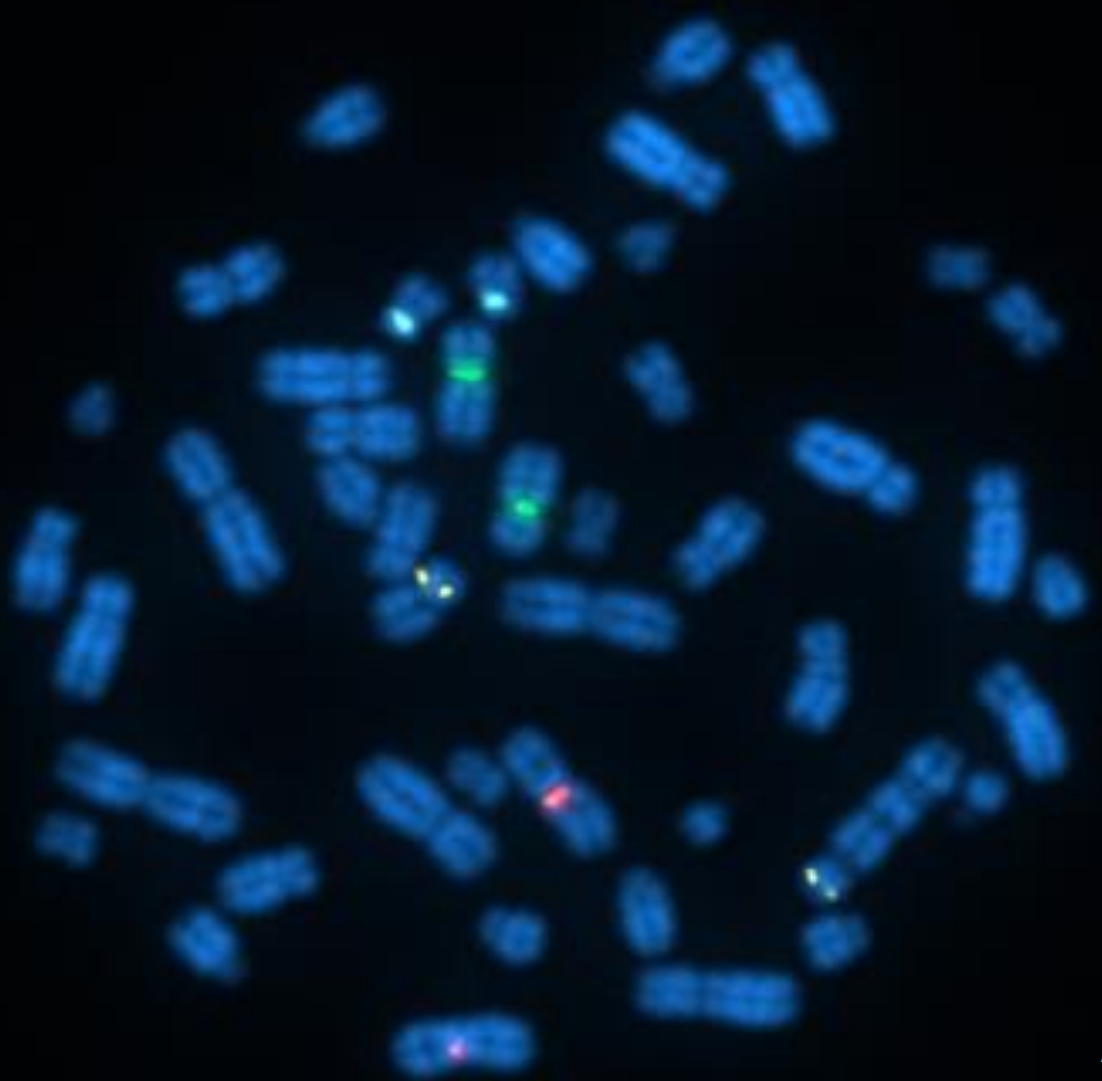
Irina A. Sokolova,\* Kevin C. Halling,<sup>†</sup>  
Robert B. Jenkins,<sup>†</sup> Haleh M. Burkhardt,\*  
Reid G. Meyer,<sup>†</sup> Steven A. Seelig,\* and  
Walter King\*

From Vysis, Inc.,\* Downers Grove, Illinois; and the Department  
of Laboratory Medicine and Pathology,<sup>†</sup> Mayo Clinic and  
Foundation, Rochester, Minnesota

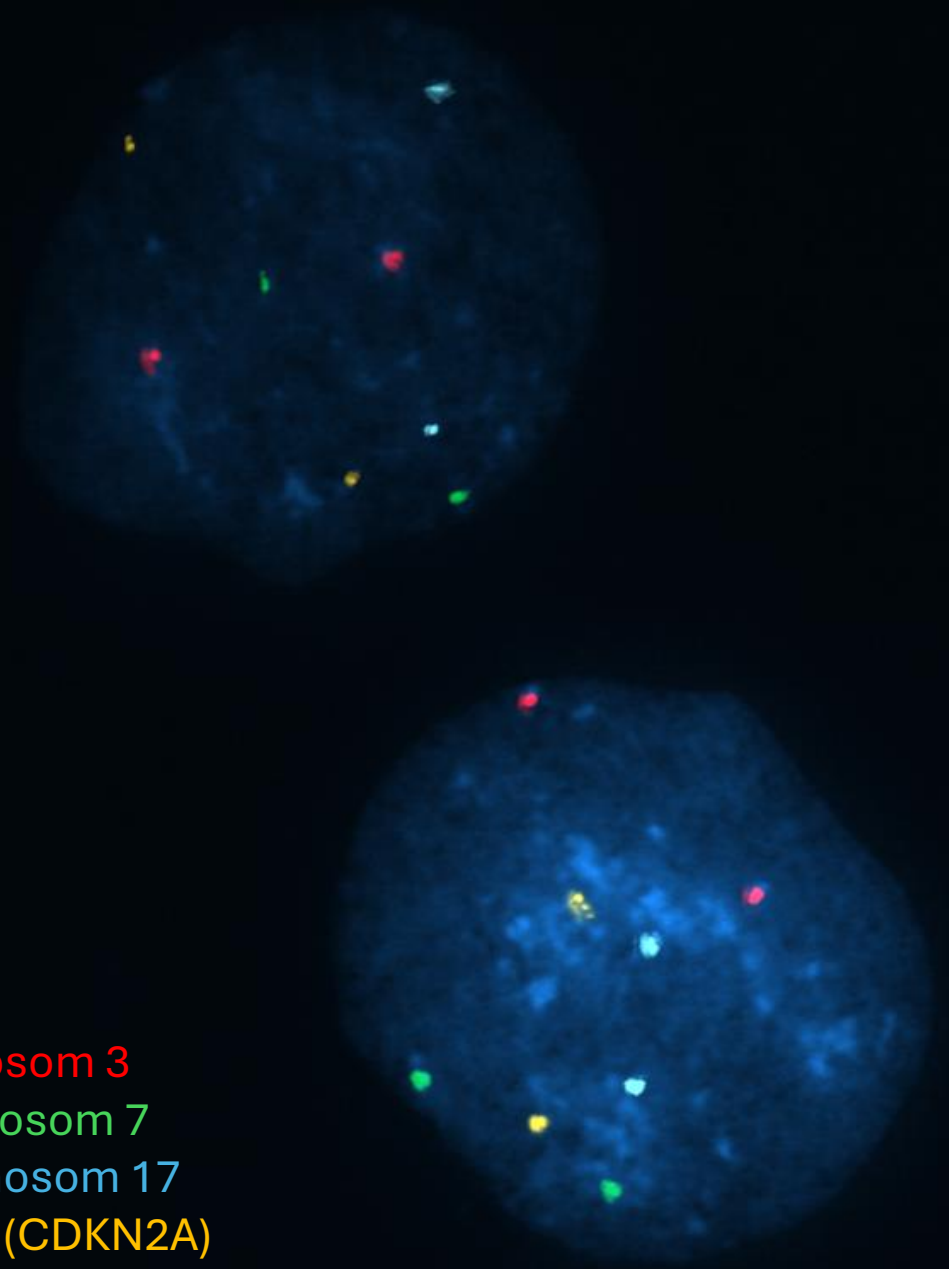
**The purpose of this study was to develop a multitarget, multicolor fluorescence *in situ* hybridization (FISH) assay for the detection of urothelial carcinoma (UC) in urine specimens. Urinary cells obtained from**

ureters and renal pelvis). Most cases of UC arise in the bladder, but renal pelvic and ureteral UC account for approximately 5% of UC.<sup>1</sup> In the bladder, non-invasive papillary UC, UC *in situ*, and UC that has invaded not deeper than the lamina propria are referred to as superficial bladder cancer. UC that has invaded into the muscularis propria of the bladder is referred to as muscle-invasive bladder cancer. Patients with muscle-invasive disease generally undergo cystectomy in an attempt to prevent the development of metastatic bladder cancer. Patients with superficial bladder cancer, on the other hand, are followed at regular intervals (eg, every 3 months) for tumor recurrence and progression, usually with cystoscopy and cytology. Numerous studies have demonstrated that cytology has high specificity but poor

CHROMOSOME	CYTOGENIC LOCATION/STS	PROBE NAME	FLUOROPHORE
3	3p11.1-q11.1 Alpha Satellite DNA	Vysis CEP 3 SpectrumRed	
7	7p11.1-q11.1 Alpha Satellite DNA	Vysis CEP 7 SpectrumGreen	
9	9p21	Vysis LSI p16 (9p21) SpectrumGold Probe	
17	17p11.1-q11.1 Alpha Satellite DNA	CEP 17 SpectrumAqua	



Röd = kromosom 3  
Grön = kromosom 7  
Aqua = kromosom 17  
Gold = 9p21 (CDKN2A)



# TPS-kategorier för urinprover

Unsatisfactory

Negative for High Grade Urothelial Carcinoma (NHGUC)

Atypical Urothelial Cells (AUC)

Suspicious for High Grade Urothelial Carcinoma (SHGUC)

Positive for High Grade Urothelial Carcinoma (HGUC)

## The Paris System for Reporting Urinary Cytology

Eva M. Wojcik  
Daniel F.I. Kurtycz  
Dorothy L. Rosenthal  
*Editors*

*Second Edition*

 Springer



Maria Johansson, undersköterska vid Endoskopienheten, Muhammed Al-Jabouri, assisterande operatör och Urban Arnelo, huvudoperatör, under en ERCP.

PRESSMEDDELANDE - 15 DECEMBER 2021 15:09

## Nationell högspecialiserad vård för PSC tilldelas Norrlands universitetssjukhus



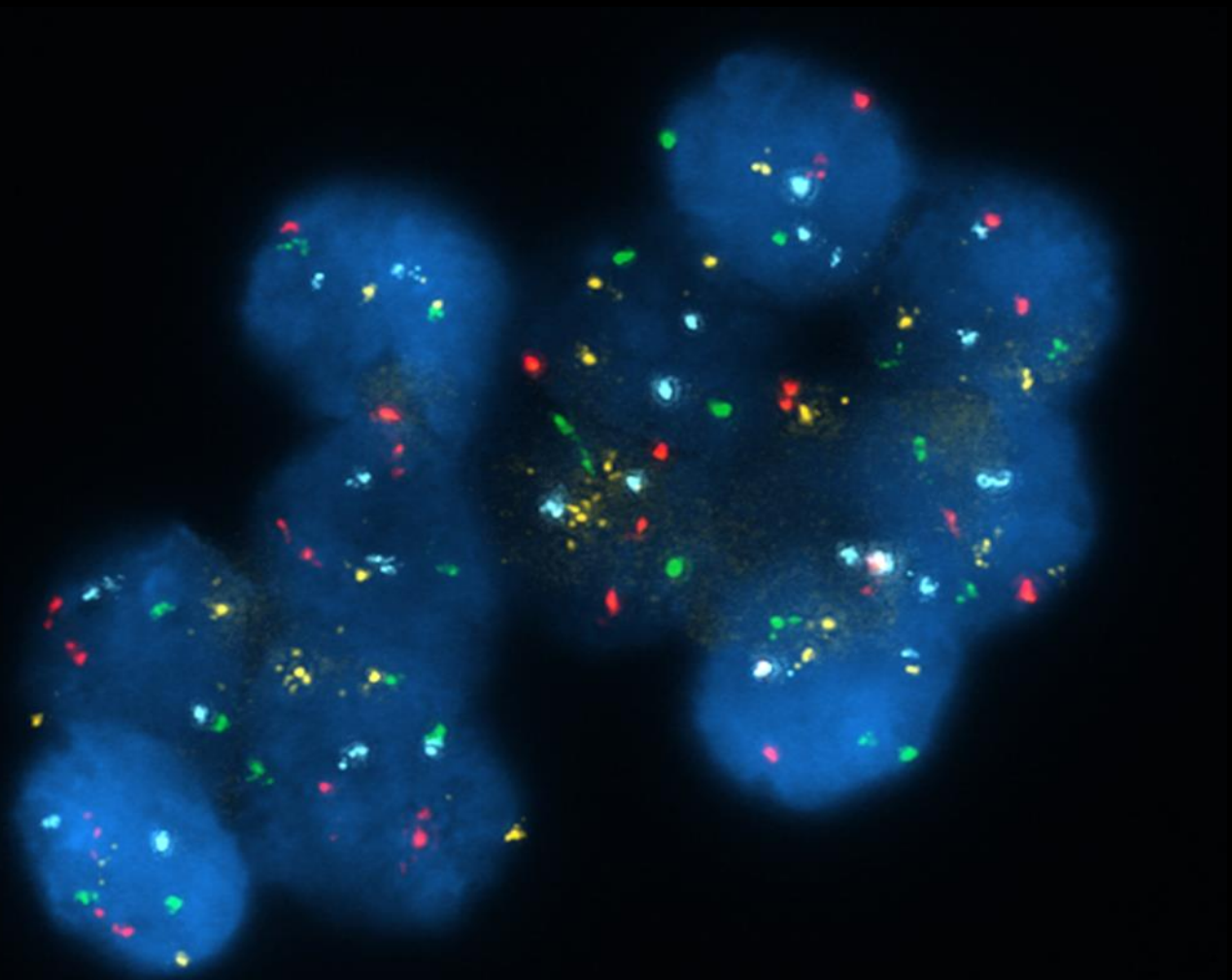
Region Västerbotten och Norrlands universitetssjukhus får som en av fem enheter i landet tillstånd att bedriva nationell högspecialiserad vård för avancerad invasiv diagnostik och behandling av primär skleroserande kolangit (PSC).

Nationell  
högspecialiserad vård:

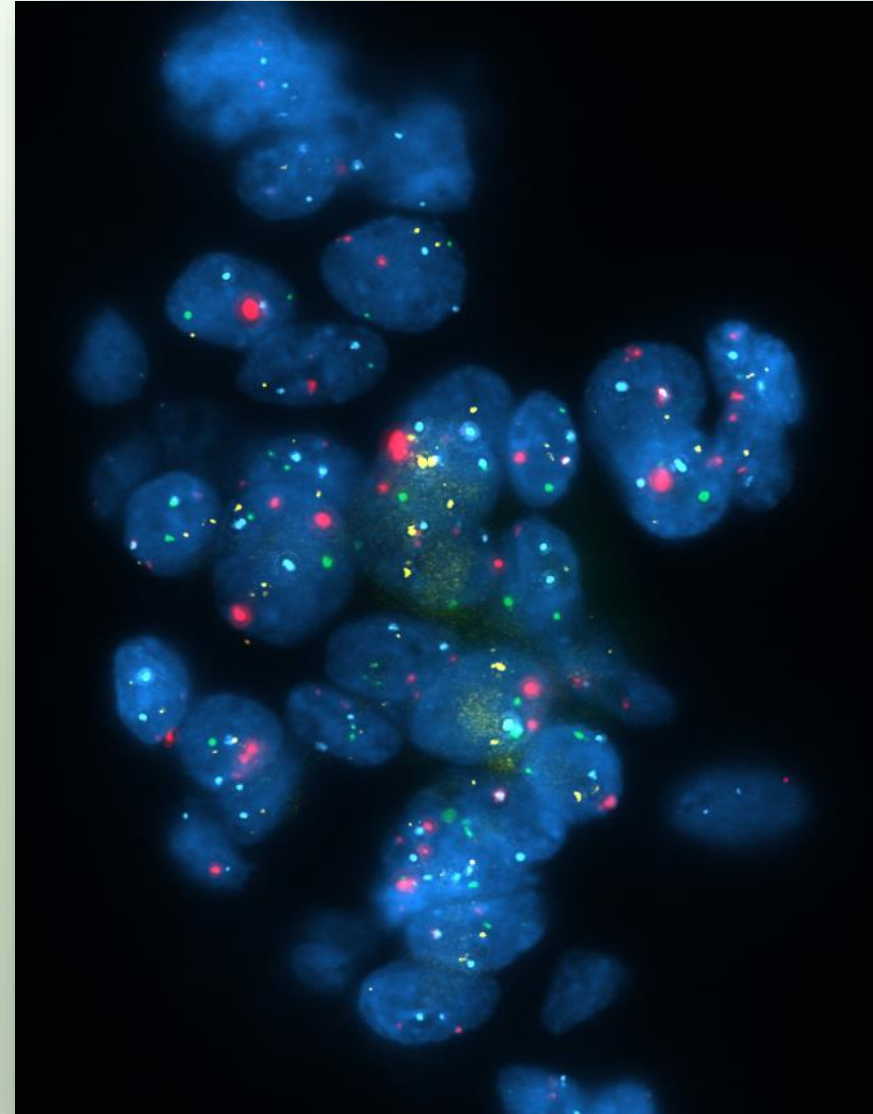
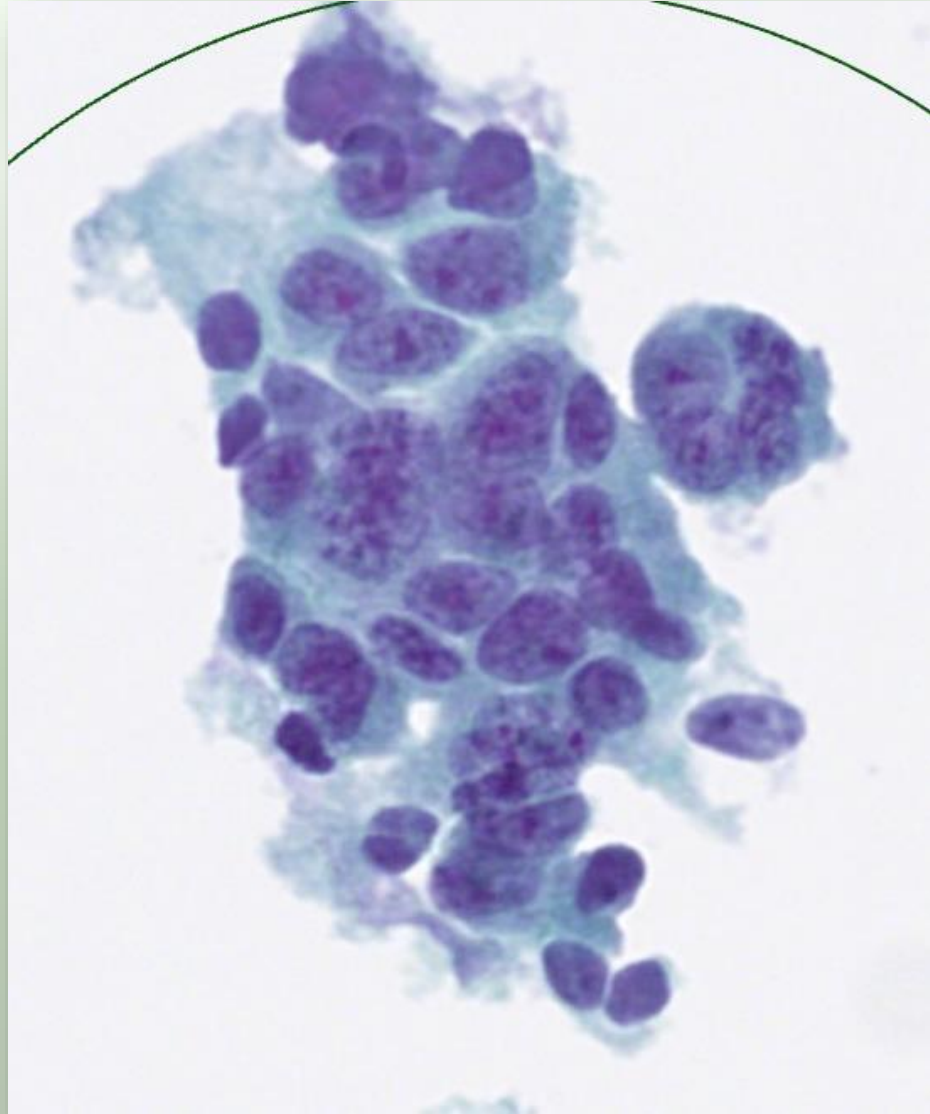
Offentligt finansierad vård som bedrivs vid som mest fem enheter i landet. Endast ett fåtal vårdgivare kan uppfylla kraven på kompetens, tillgänglighet och arbete i multidisciplinära team.

# Metodutveckling

- Inköp och test av prober på olika material
- Validering av metoden - dubbelanalys med Karolinska
- Studiebesök hos andra som kör metoden
- Morfologigenomgångar för FISH-personal
- Utökat personalstyrka genom samarbete med cytodiagnostiker
- Bättre stöd för morfologiskt guidad analys



# IDS7 – mer exakt analys av samma celler



# Analys och tolkning av FISH - Pariskriterier

- Celler räknas som avvikande när det finns en gain (>2 signaler) för två eller fler av 3/7/17 eller en homozygot deletion av 9p21 (noll signaler).
- Testet är positivt om  $\geq 4$  av 25 analyserade celler har denna gain, eller om  $\geq 12$  av 25 celler har noll 9p21.

## The Paris System for Reporting Urinary Cytology

Eva M. Wojcik  
Daniel F.I. Kurtycz  
Dorothy L. Rosenthal  
*Editors*

*Second Edition*

 Springer

# Homozygot deletion av 9p21 (samt extra signal av röd markör)

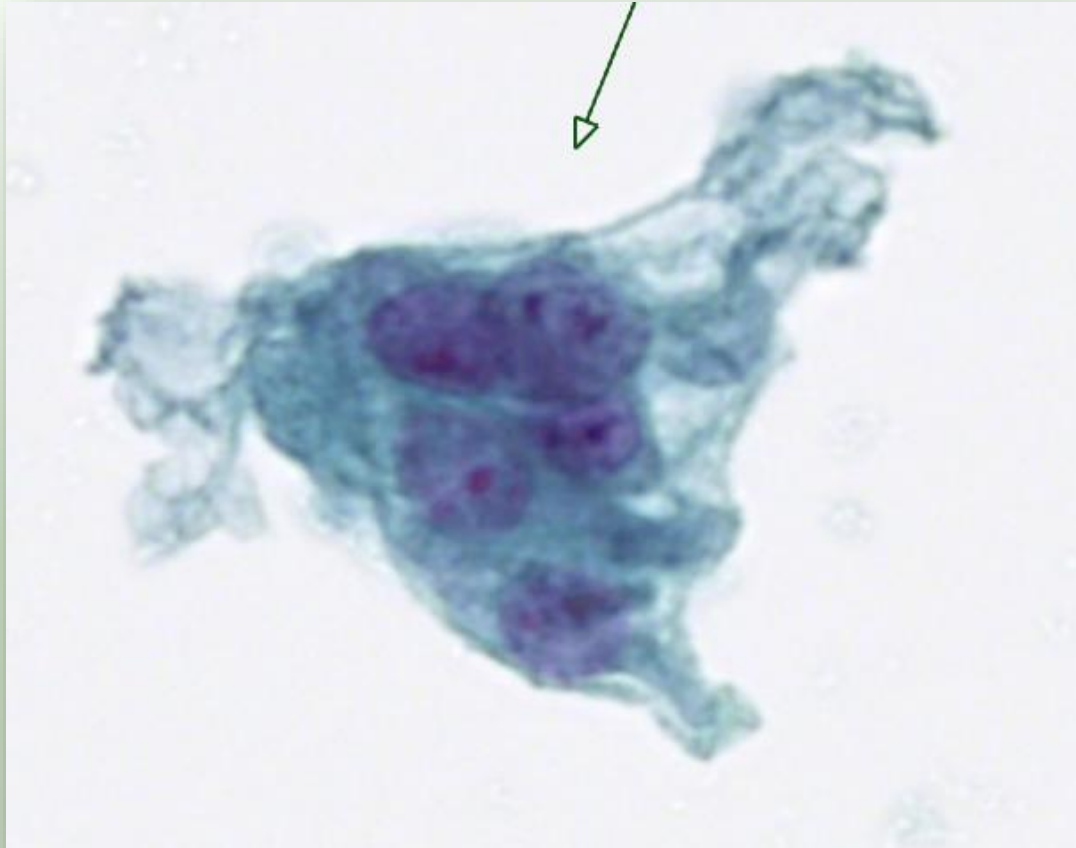
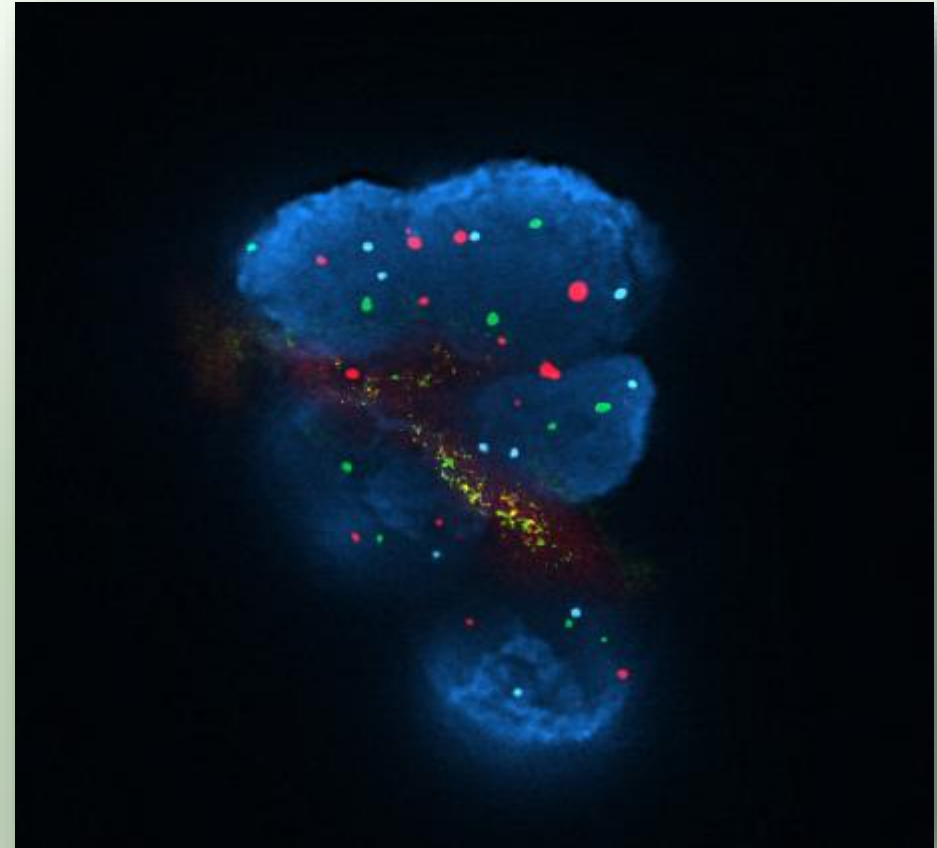


Bild ur IDS7 på cytologiskt avvikande celler



Motsvarande celler i FISH-mikroskop

# Aneuploidi

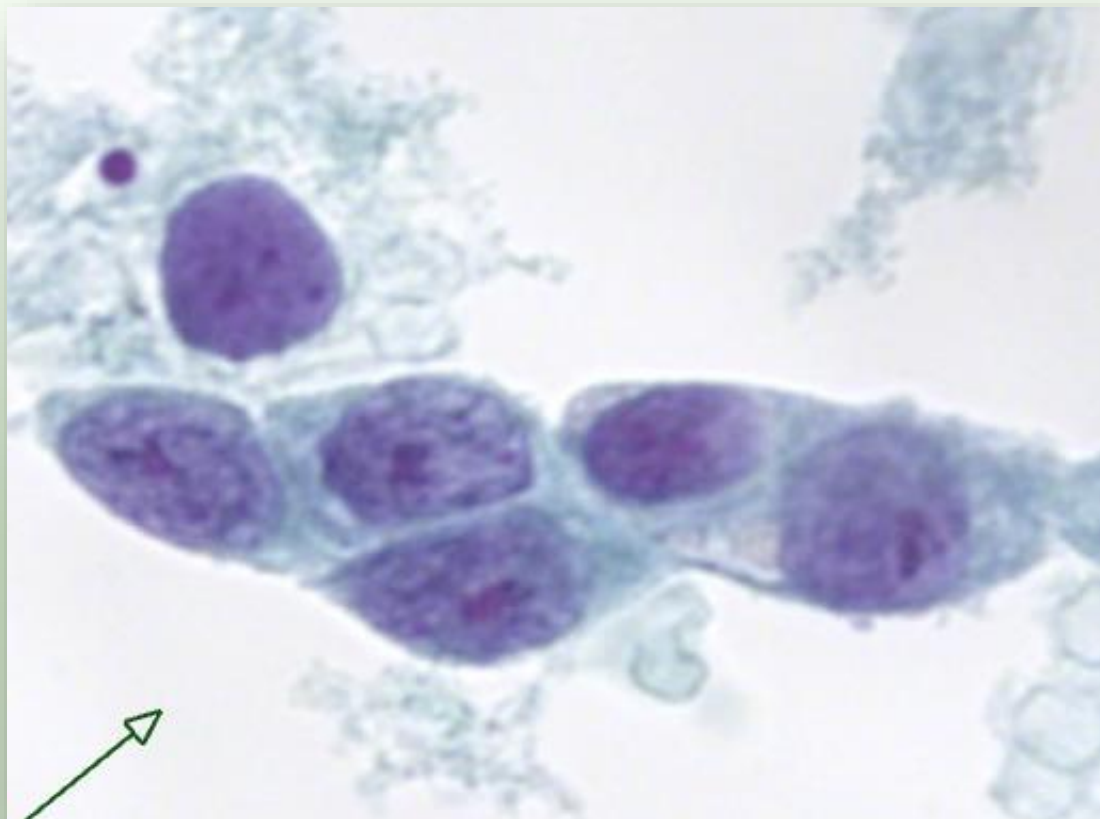
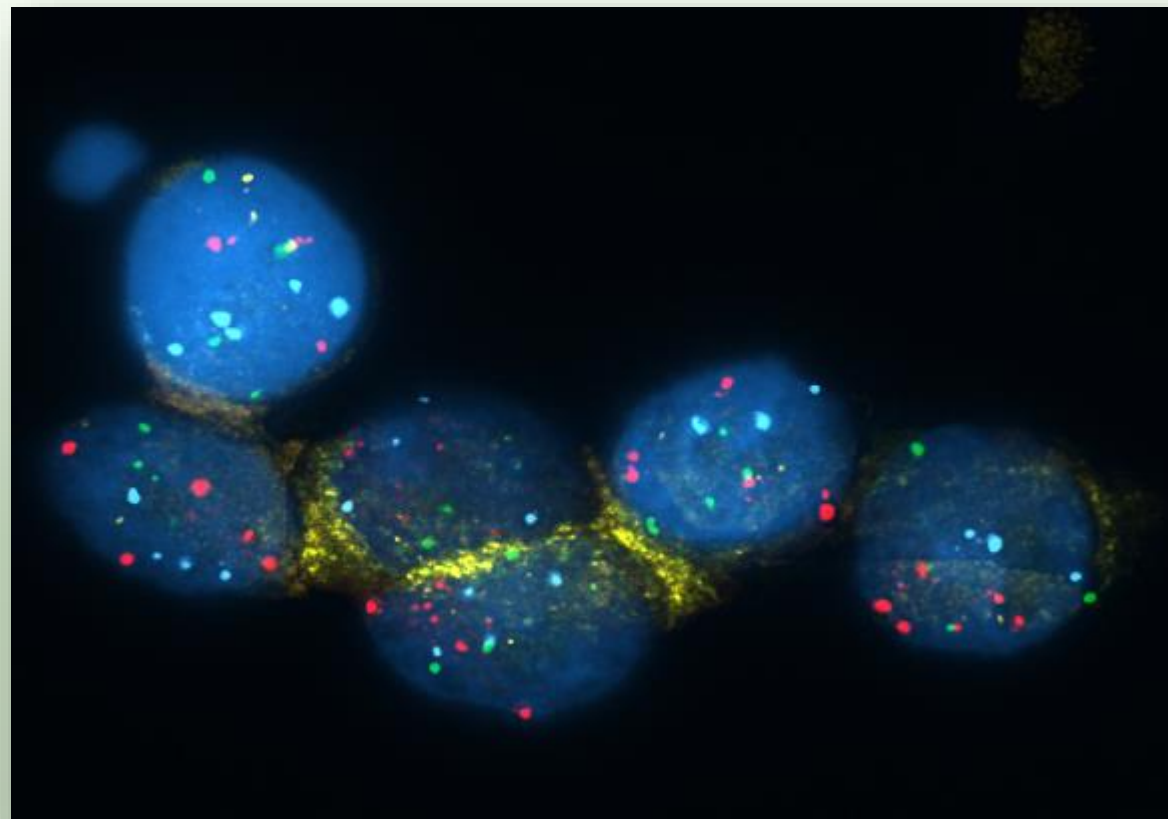


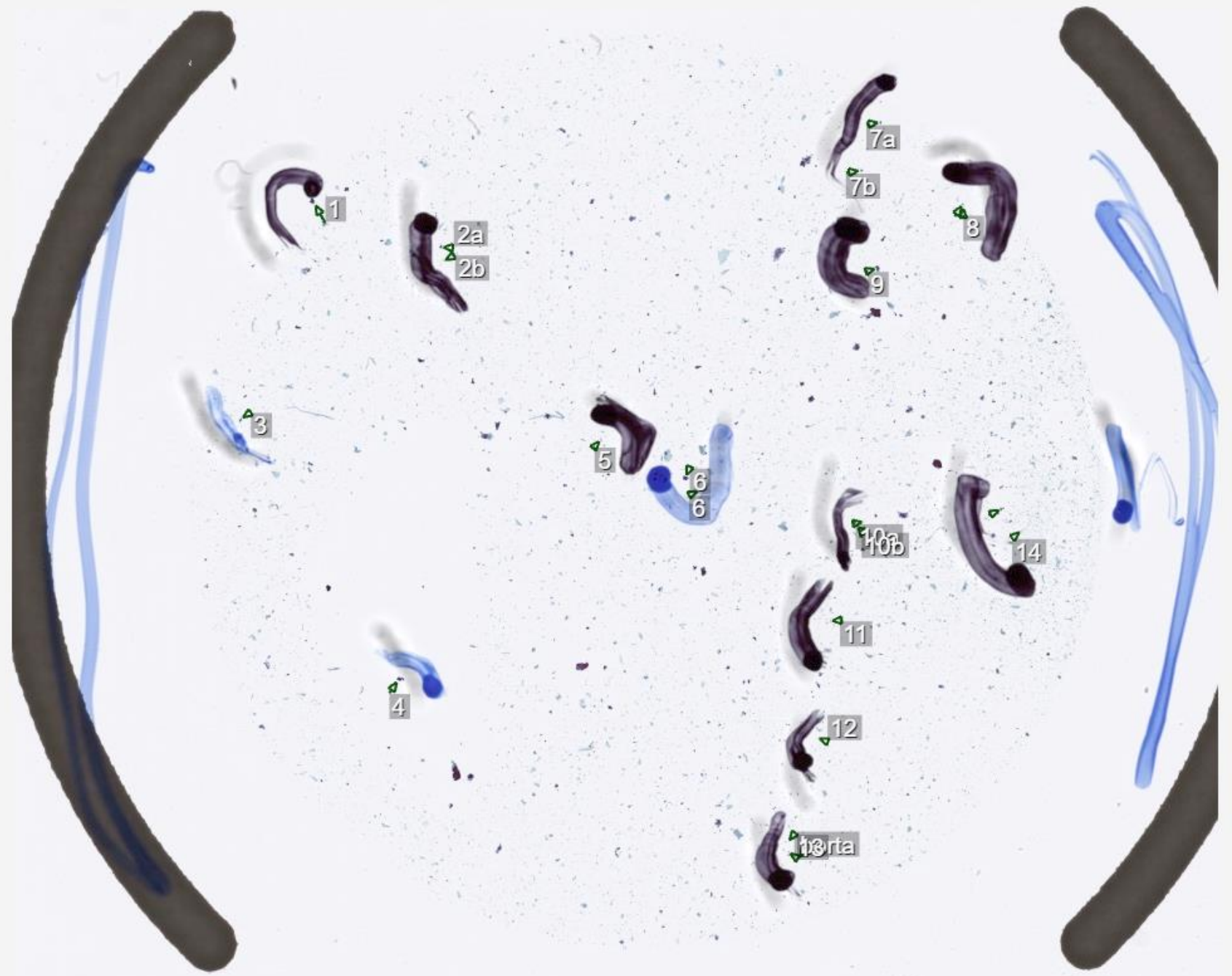
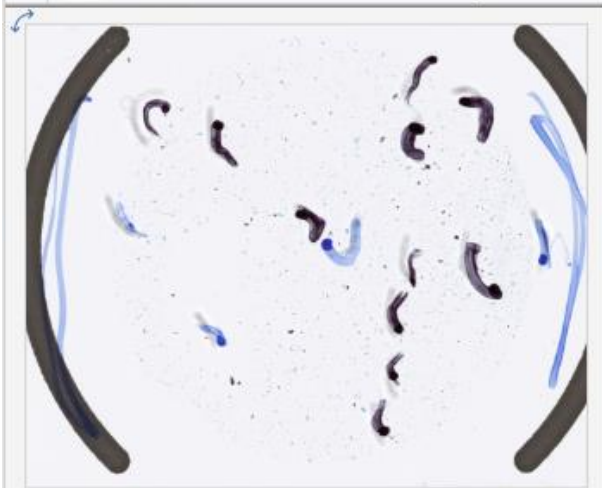
Bild ur IDS7 på cytologiskt avvikande celler



Motsvarande celler i FISH-mikroskop

PAP;1 A

$f_{\pm 0}$  0.3/40x

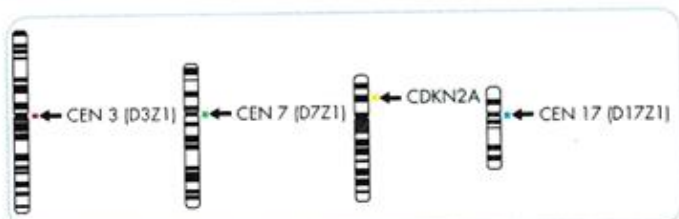


# UroVysion

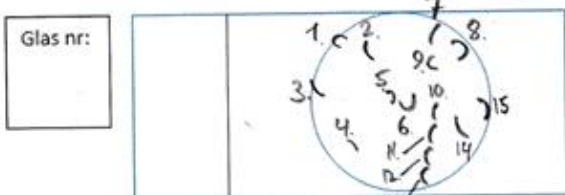
CEP 3 - Red / CEP 7 - Green / CEP 17 - Aqua / LSI CDKN2A 9p21 - Gold

Abbott Cat Nr: 02J27-020

**Säkerhetsaspekter:** Tänk på att immersionsolja är irriterande, använd skyddshandskar.



Ideograms of chromosomes 3, 7, 9, and 17 indicating the hybridization locations.



1. Ej bedömbär
2. Aneuploid
3. Aneuploid
4. Borta
5. Aneuploid
6. Ej bedömbär
- 7a. Ej bedömbär
- 7b. Aneuploidi

8. Aneuploidi
9. Ej bedömbär
10. a) aneuploid  
b) tetraploidi, 2 gnd
11. Åtminstone en cell är aneuploid, de andra near tetra, men tror de också är aneuploidi
12. Aneuploidi, oktetraploidi + 800gnd = 4 gnd
13. Aneuploidi
14. Aneuploidi

Sammanfattande bedömning och signaturer:

Aneuploid   del(9)(p21)   Diploid   Ej bedömbär

Övrigt, se kommentar

Bild till IDS7: 2b, 14

Signatur: MASTGG JMR

Aneuploid

Analysera minst 25 morfologiskt abnorma celler.

Om ett av följande kriterier har uppnåtts **avslutas** analysen:

- Minst 4 av 25 celler visar ökning av 2 eller fler kromosomer (3, 7 eller 17) i samma cell
- Minst 12 av 25 celler saknar 9p21-signaler (homozygot deletion)

Fortsatt annars analysen tills minst ett av kriterierna har uppnåtts eller tills hela provet har analyserats.

Glas nummer: 1

Cell nr	Foto i CV	CEN 3 Röd	CEN 7 Grön	Cen 17 Aqua	9p21 Guld	Utfall 1 - normal 2 - avvikande
1.	-	3	~4	5	2?	2
2.	-	3	3	3	2?	2
3.	-	~5	3	5	2?	2
4.	-	4	6	6	2	2
5.	-	4	4	4	2	1...
6.	-	4	4	4	2	1...
7.	11	4	5	4?	2?	2
8.	11	4	5	4?	2?	2
9.	11	6	4	4	2?	2
10.	-	8	8	10	4	2
11.	-	8	7	10	?	2
12.	-	6	4	5	?	2
13.	14	3	4	5	2	2
14.	14	5	4	4	2	2
15.	14	4	4	4	2	tetra, 1...
16.	14	~6	4	4	2	2
17.	14	4-5	4	3	2	2
18.	14	5	4	3	2	2
19.	14	5	4	4	?	2
20.						
21.						
22.						
23.						
24.						
25.						

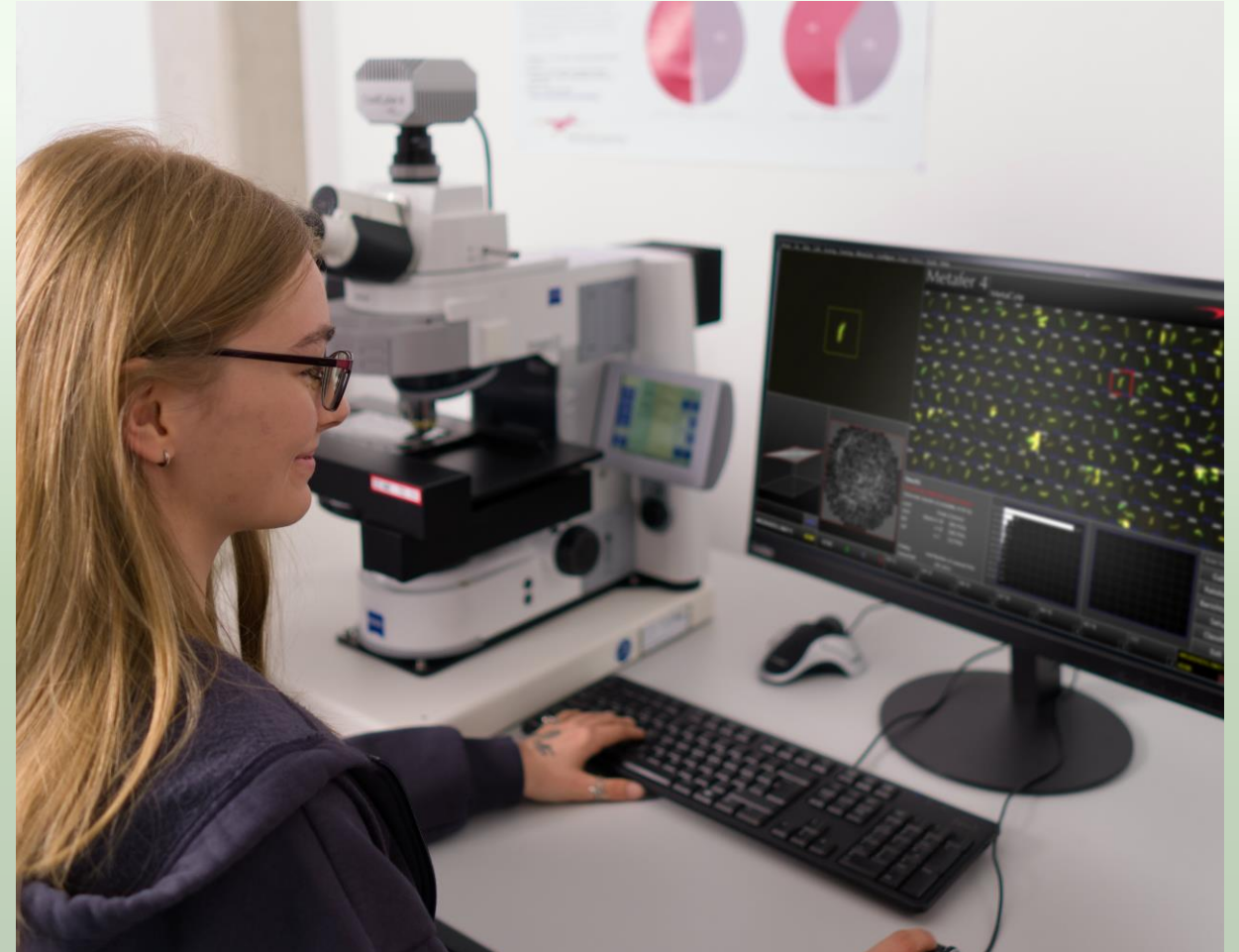
Sammanfattande bedömning och signatur: Aneuploidi JMR

Kommentar:

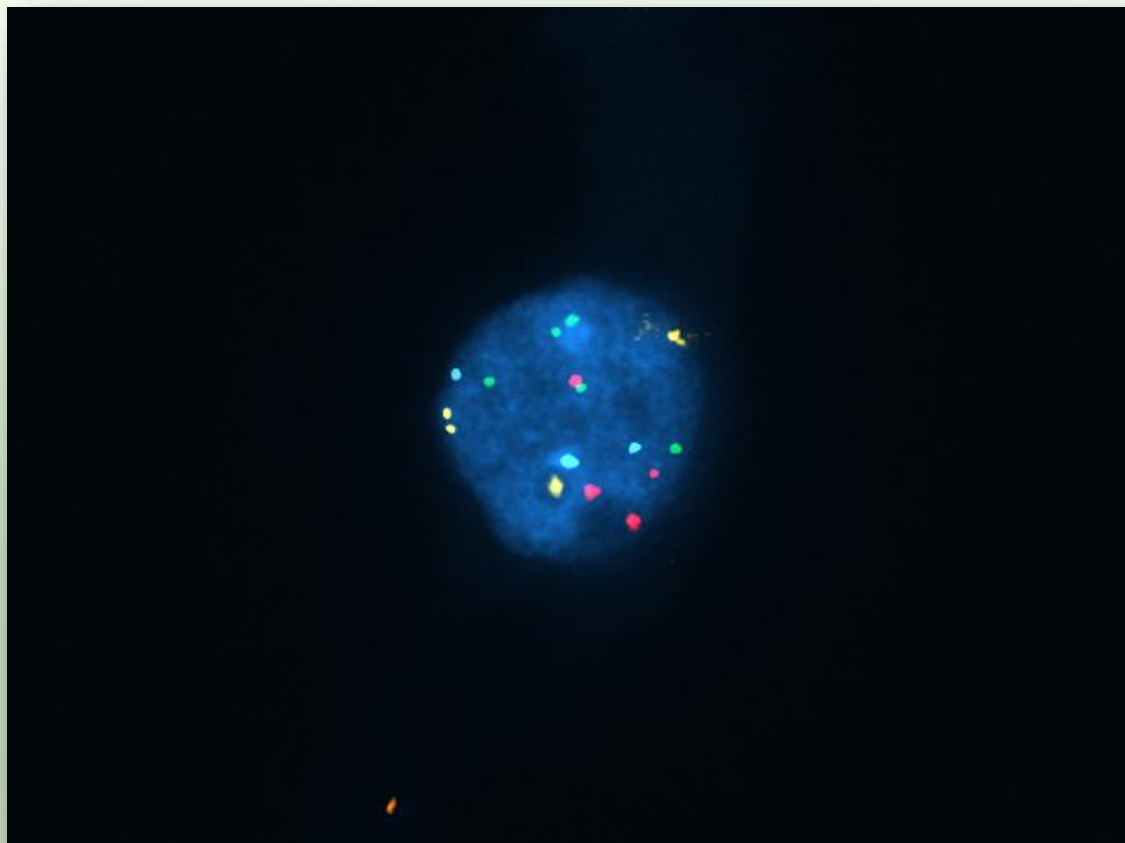
# Kvalitetskontroll- program - Samarbete med övriga laboratorier i Sverige



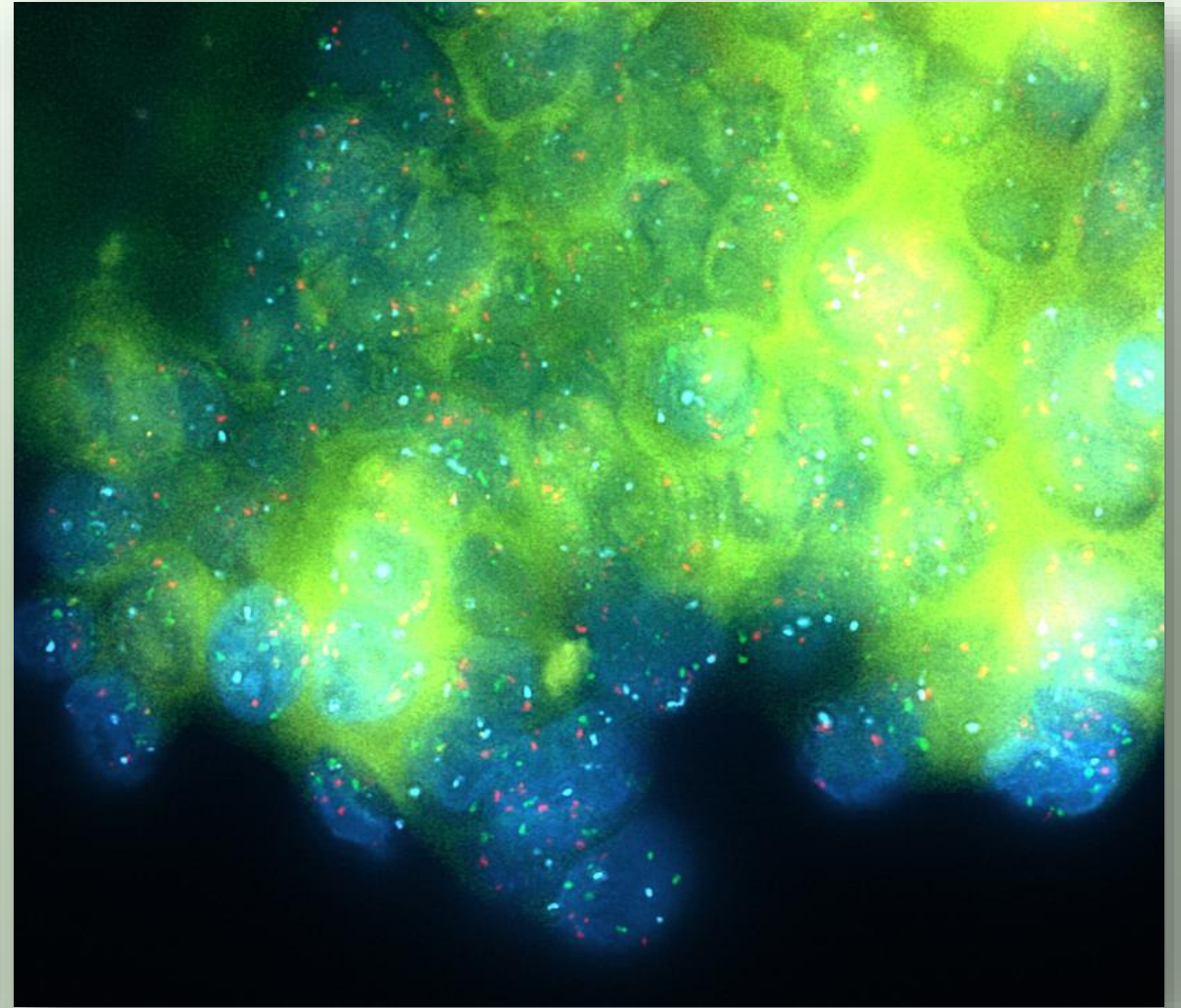
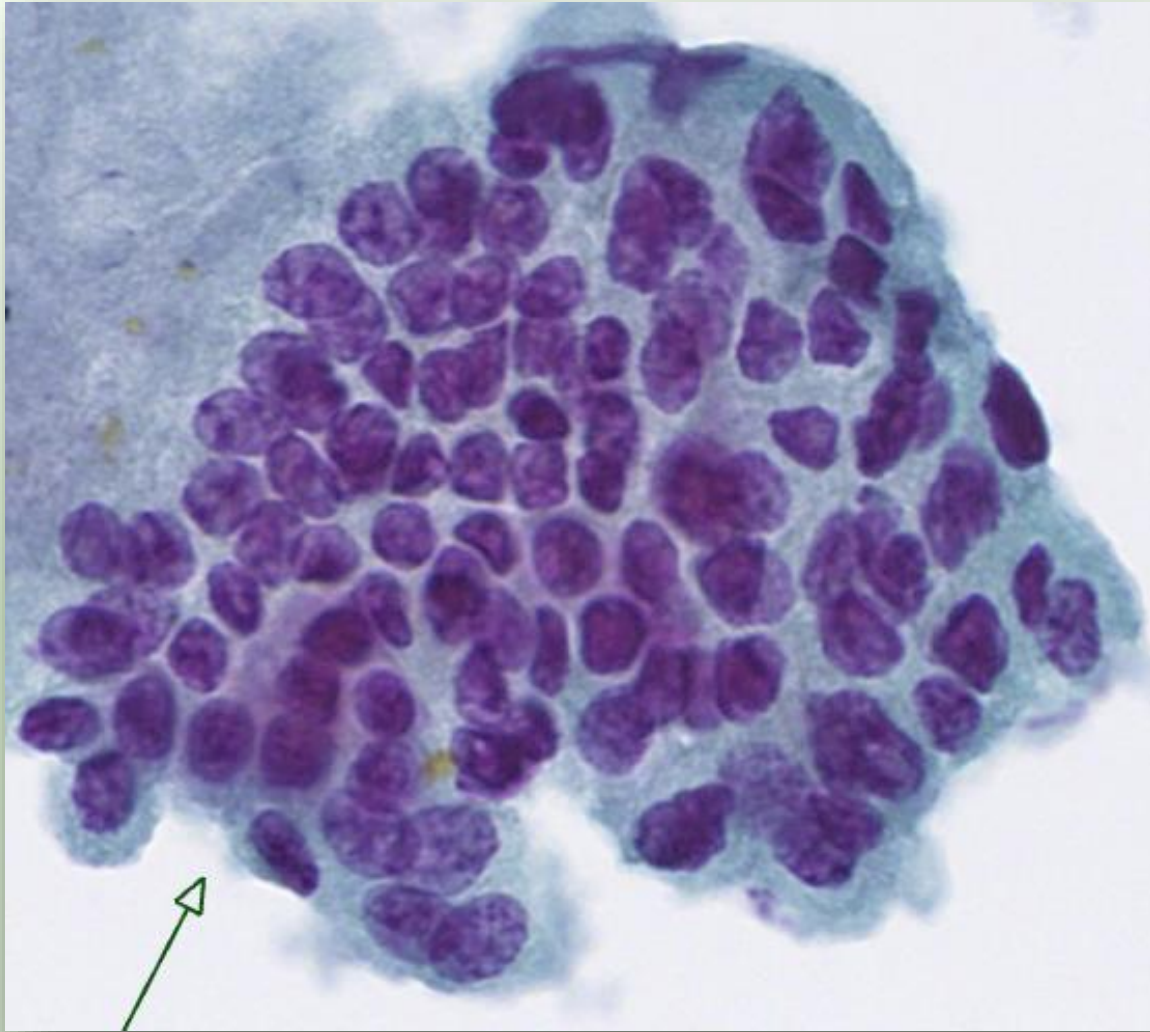
# Morfologiskt riktad analys vs spotcounter



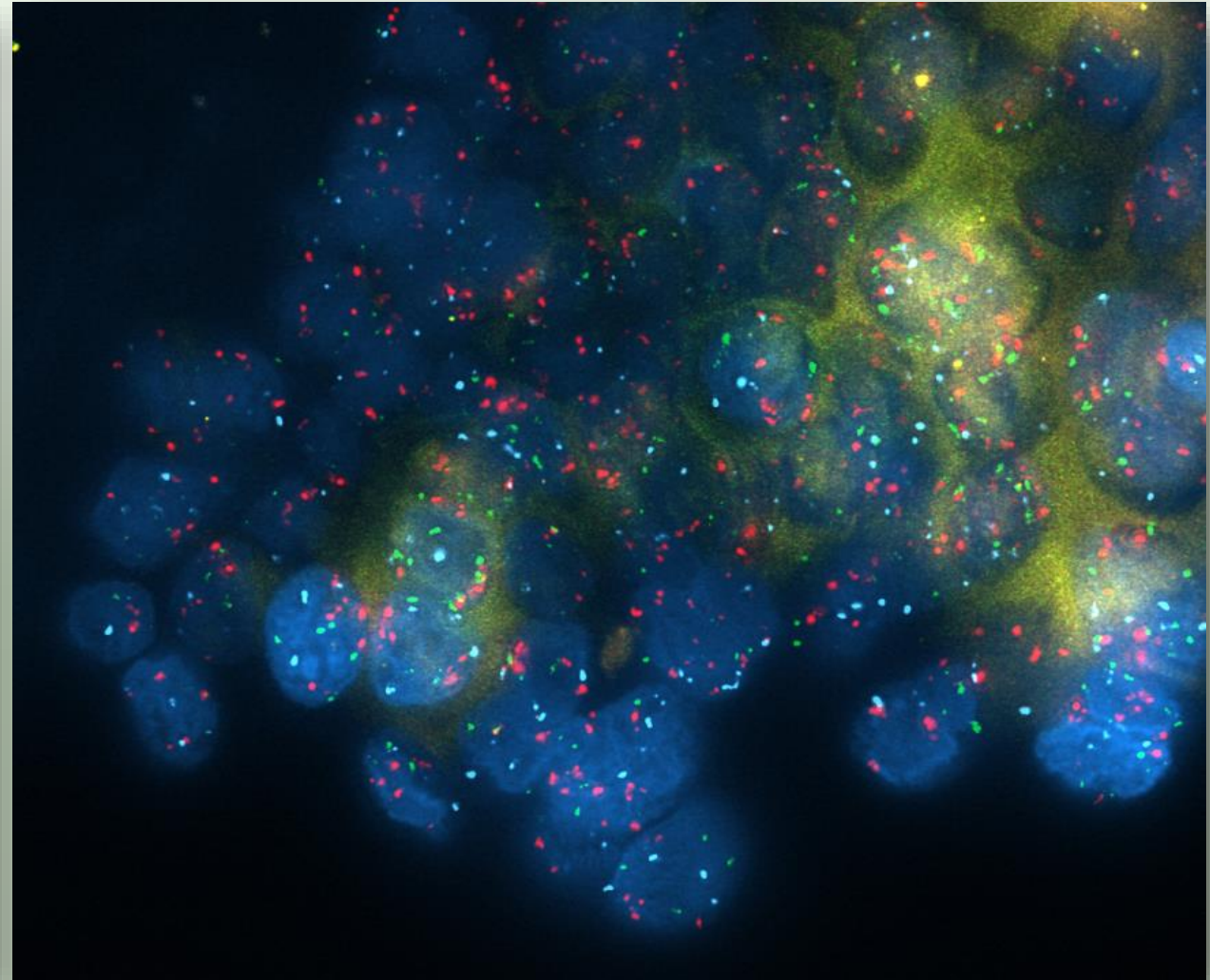
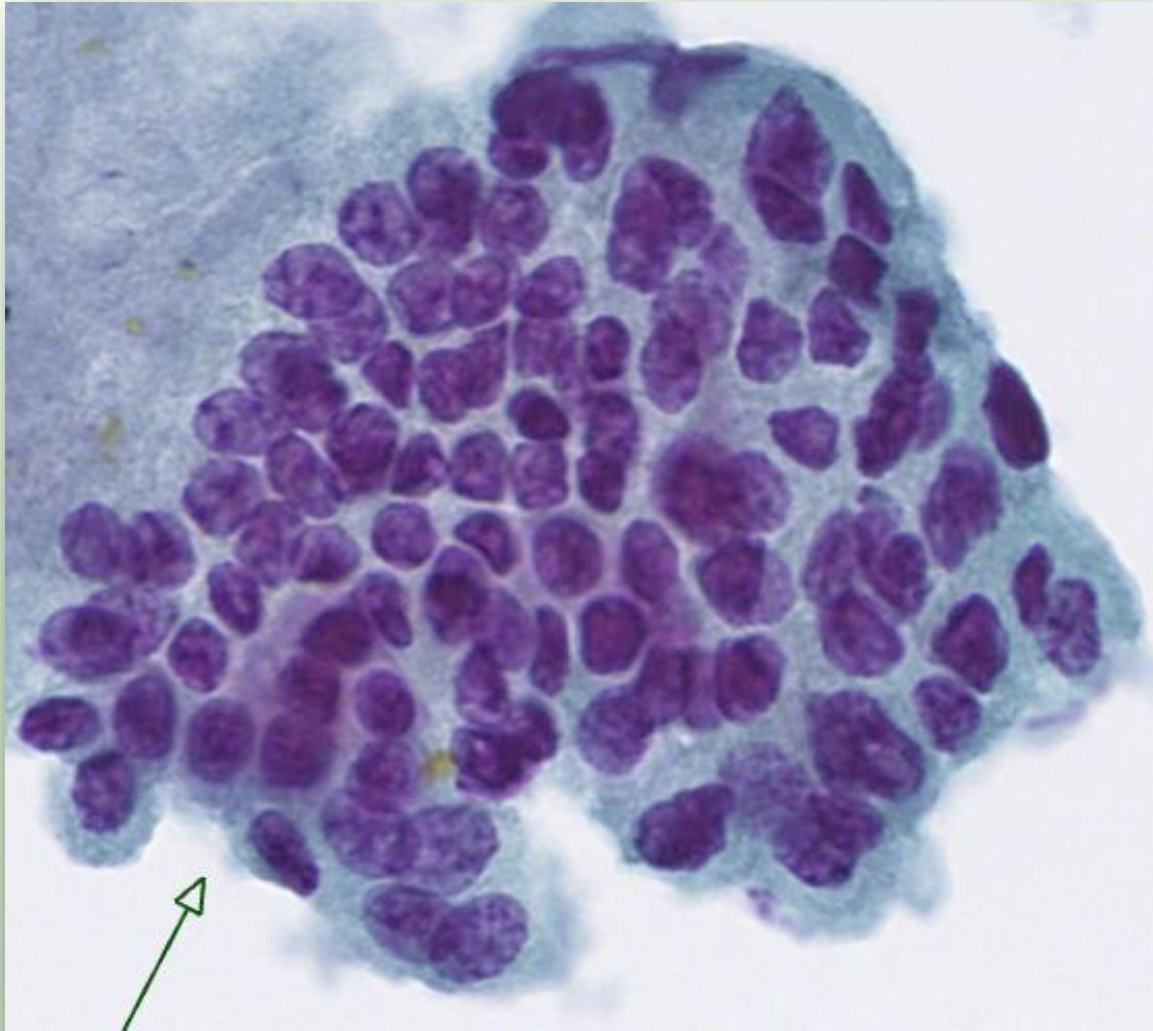
# Analytiska knepigheter - Tetraploidi



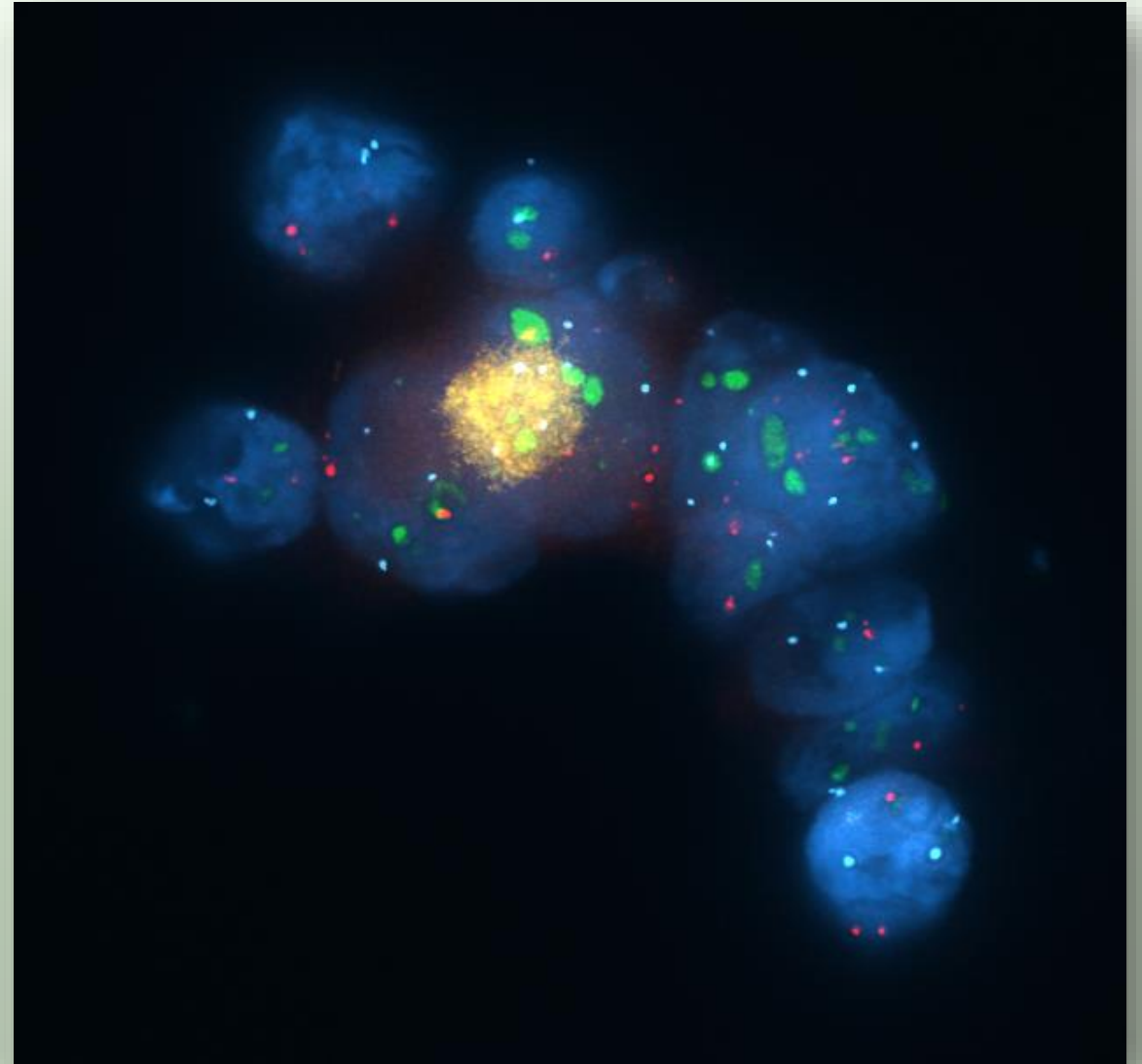
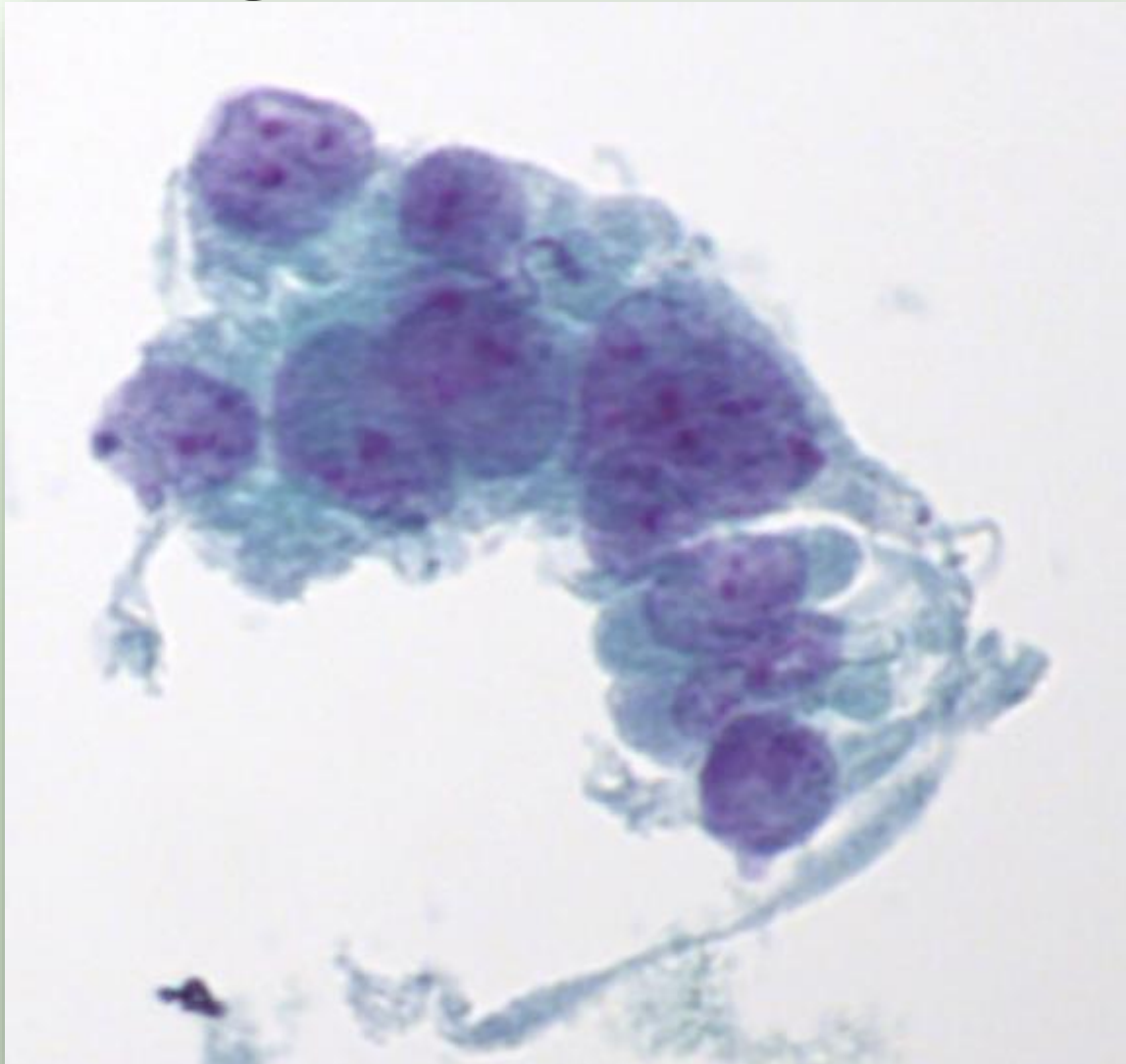
# Analytiska knepigheter – överlappande celler



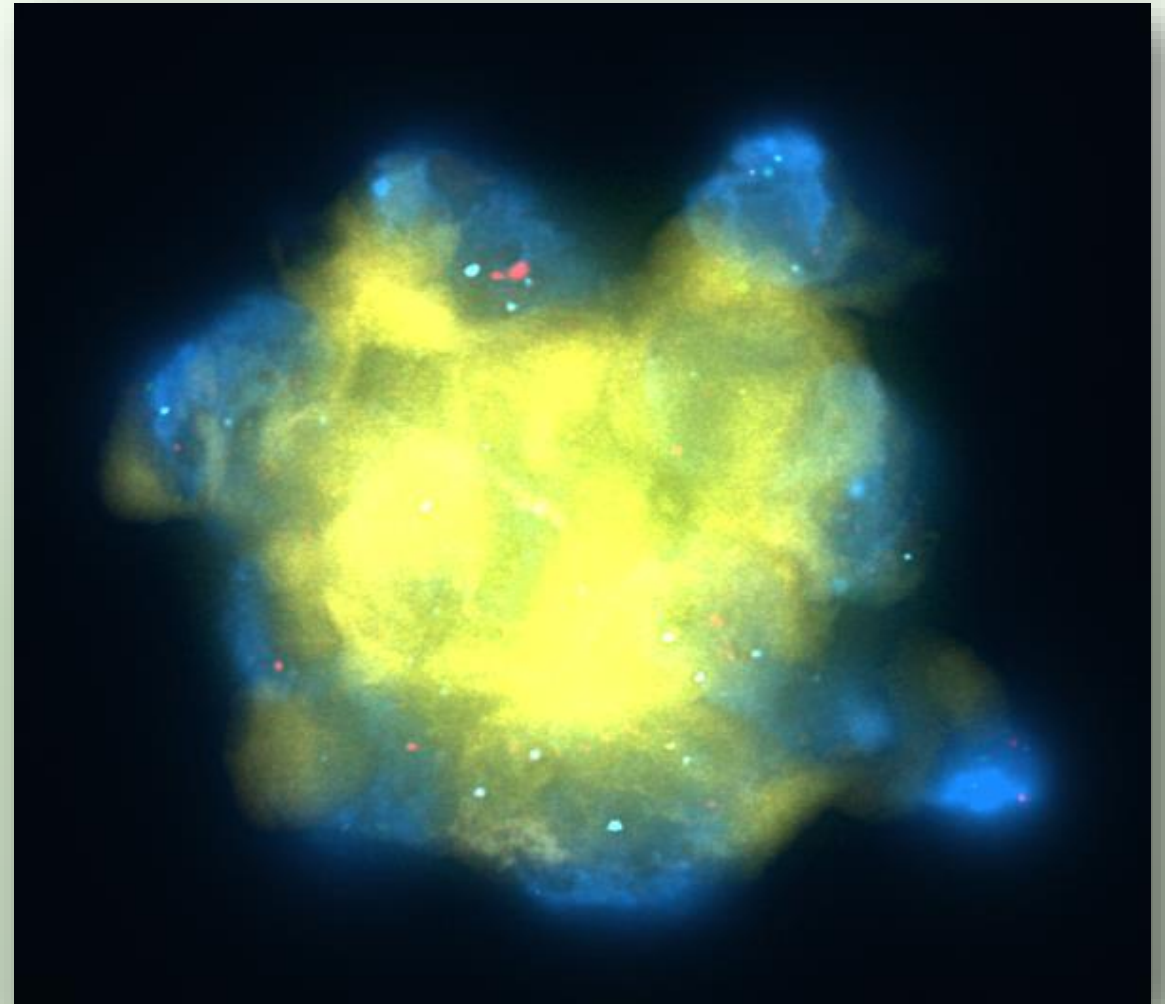
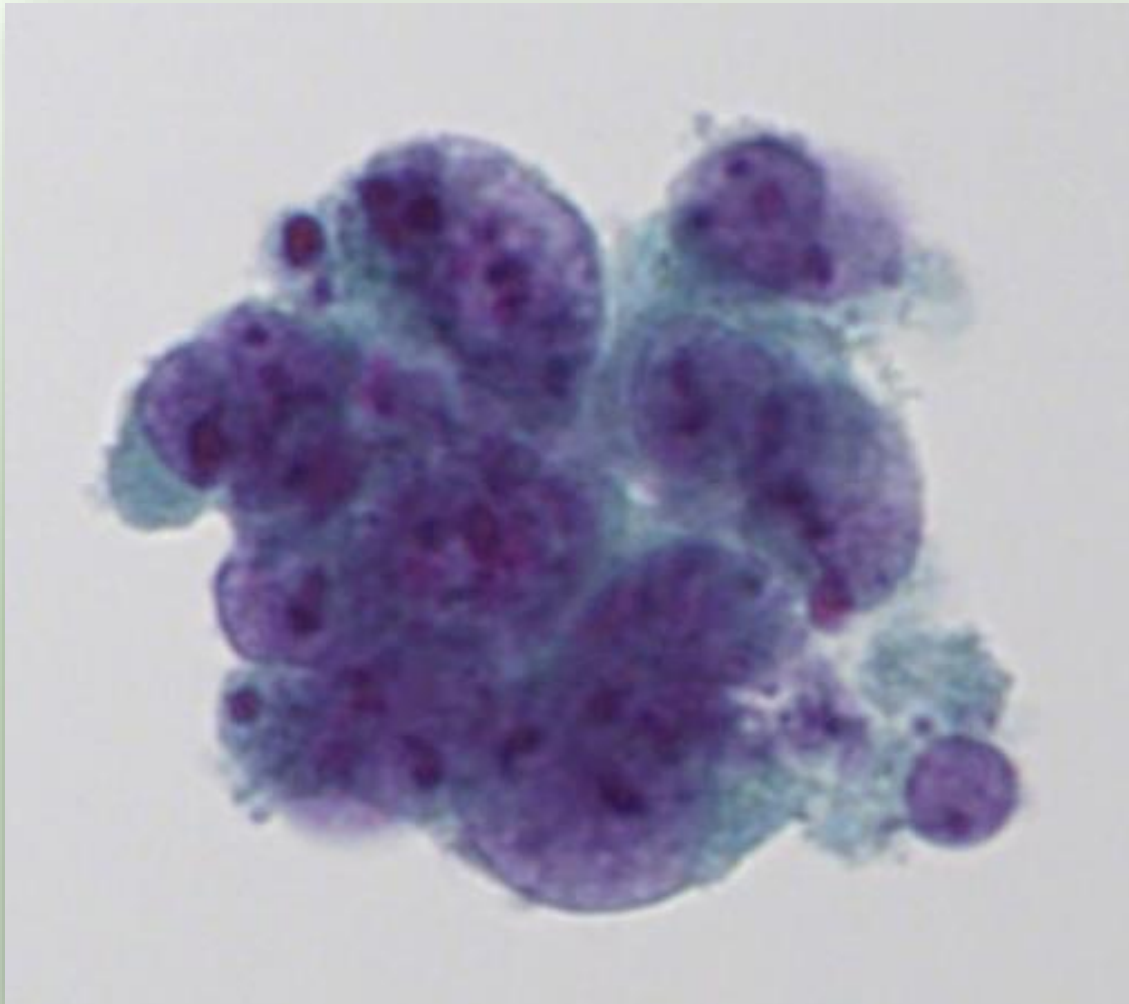
# Analytiska knepigheter – överlappande celler



# Analytiska knepigheter – svaga signaler och bakgrundsfluorescens



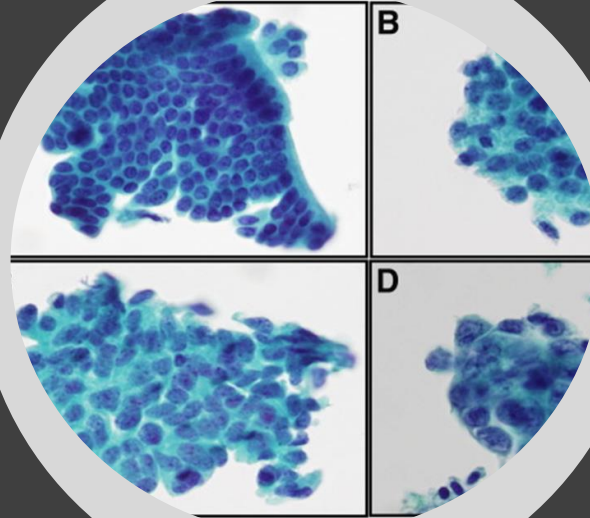
# Analytiska knepigheter – svaga signaler och överlapp



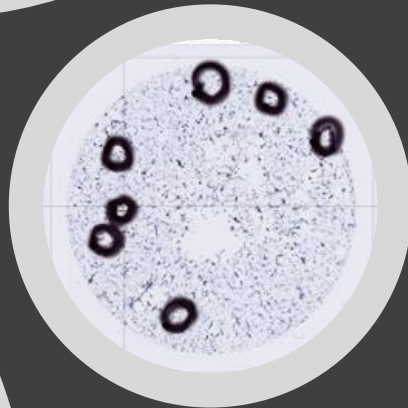
# The Paris System for Reporting Urinary Cytology

Bildkälla: <https://www.amazon.se/-/en/Paris-System-Reporting-Urinary-Cytology/dp/3030886859>

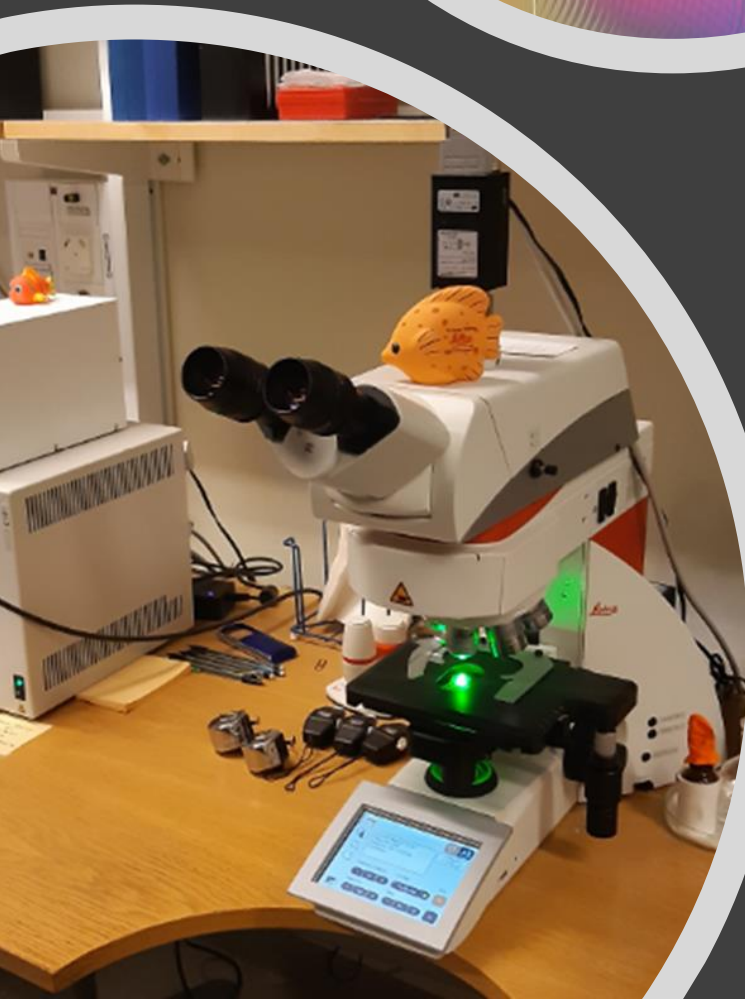
<https://www.gastrojournal.org/article/s0016-5085%2809%2900284-4/fulltext>



<https://www.solutionmedical.gr/en/products-h/disposables-3/preservcyt-vial-for-thin-prep-test-20ml-hologic-usa-25-pcs-22383-detail>

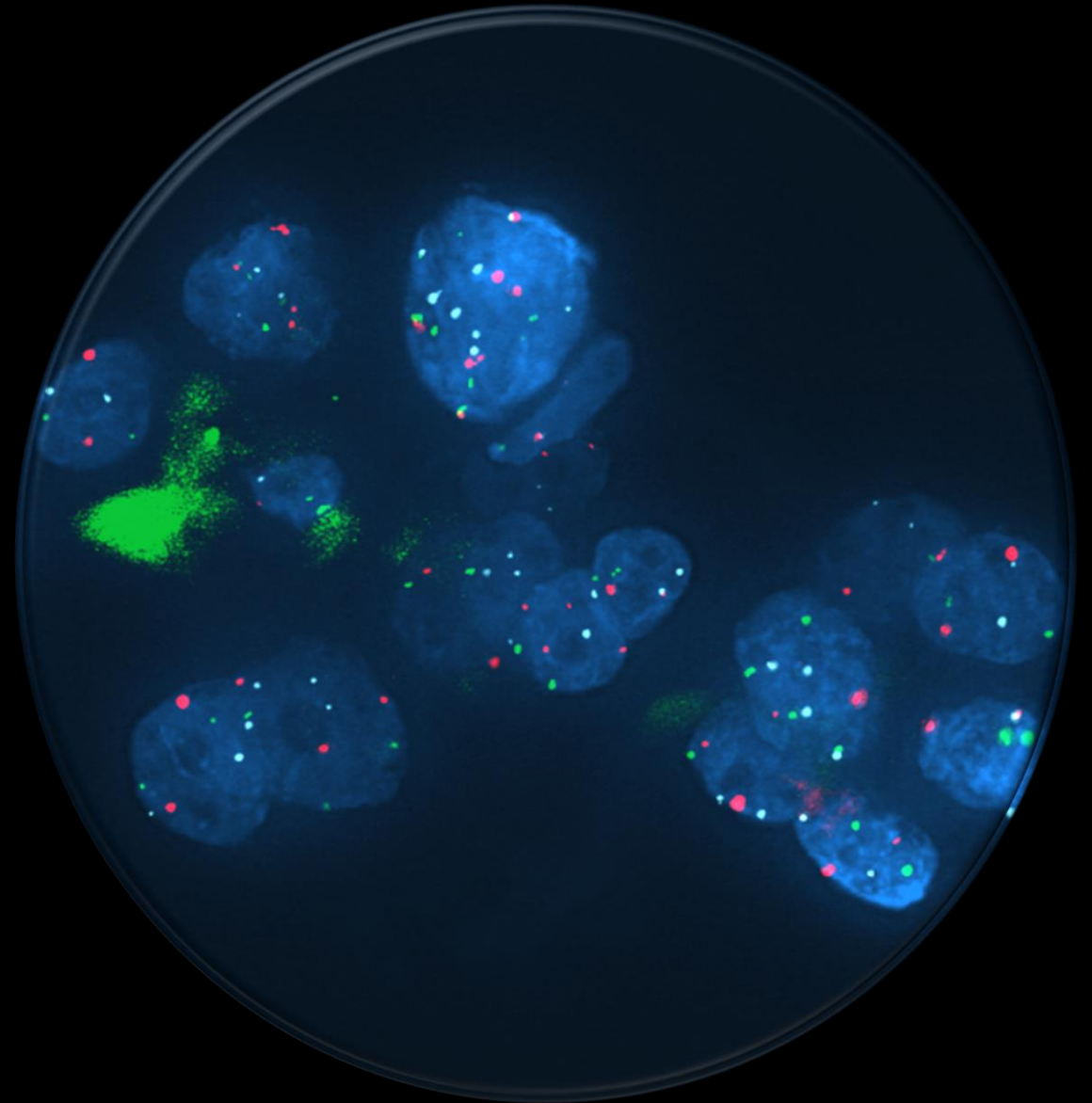


Lång (pre)analysprocess leder till svårigheter att felsöka!



# Sammanfattning

- UroVysion-FISH bidrar till specificitet och sensitivitet vid urin-och gallgångsdiagnostik.
- UroVysion är en riktad, ofta morfologiskt guddad genetisk analys.
- Det finns en del analytiska utmaningar vid FISH-analys av urin och gallgång





FRÅGOR

10.17/DFN25/D  
PL APO  
+0-0.70 OIL