



A Sysmex Group Company



Kullanım Talimatları

REF: LPH 019-S / LPH 019

E2A (TCF3) Breakapart Probe



YALNIZCA PROFESYONEL KULLANIM İÇİNDİR



Daha fazla bilgi ve diğer dil seçeneklerini www.ogt.com adresinde bulabilirsiniz

Sınırlamalar

Bu cihaz, E2A (TCF3) bölgesini içeren bu prob setindeki kırmızı ve yeşil klonlarla bağlanmış bölgedeki kırılma noktalarına sahip yeniden düzenlemeleri tespit etmek için tasarlanmıştır. Bu bölge dışındaki kırılma noktaları ya da tümüyle bu bölge dahilinde olan varyant yeniden düzenlemeleri bu ürünle tespit edilemeyebilir. Bu test şunlar için kullanılmaz: bağımsız tanılama, prenatal test, popülasyon bazı tarama, hasta başında test ya da kendi kendine test. Bu ürün yalnızca laboratuvar uzmanları tarafından kullanılması için üretilmiştir; tüm sonuçlar, diğer ilgili test sonuçları da göz önünde bulundurulurak gerekli vasıflara sahip personel tarafından yorumlanmalıdır.

Bu ürün, kullanım amacının dışında kalan numune tipleri ya da hastalık türlerinde kullanılması için valide edilmemiştir.

FISH sonuçlarının raporlaması ve yorumlanması, profesyonel uygulama standartlarıyla tutarlı olmalıdır ve diğer klinik ve tanılama bilgilerinin de göz önünde bulundurulmalıdır. Bu kit, tanılama amaçlı diğer laboratuvar testlerine yardımcı olması için kullanılmalıdır. Yalnızca FISH sonuçlarına dayanarak tedavi başlatılmamalıdır.

Protokole bağlı kalınmaması performansı etkileyebilir ve yanlış pozitif/negatif sonuçlara neden olabilir.

Bu kit, belirlenen kullanım amacının dışındaki amaçlarla kullanılması için valide edilmemiştir.

Kullanım Amacı

CytoCell E2A (TCF3) Breakapart Probe, doğrulanmış veya şüpheli akut lenfoblastik lösemili (ALL) hastalardan alınan hematolojik olarak türetilmiş hücre süspansiyonları sabitlenmiş Carnoy çözeltisindeki (3:1 metanol/asetik asit) kromozom 19 üzerinde 19p13.3 bölgesindeki kromozomal yeniden düzenlemeleri tespit etmek için yerinde hibridizasyon (FISH) testinde kullanılan kalitatif, otomatik olmayan bir floresandır.

Endikasyonlar

Bu ürün, E2A (TCF3) yeniden düzenleme durumu bilgisinin klinik yönetim için önemli olacağı onaylanmış tanısal ve klinik bakım yollarında diğer klinik ve histopatolojik testlere ek olarak tasarlanmıştır.

Test Prensipleri

Floresans yerinde hibridizasyonu (FISH), DNA dizilimlerinin metafaz kromozomlar üzerinde ya da sabit sitogenetik numunelerden alınan interfaz çekirdeklere tespit edilmesine yardımcı olan bir tekniktir. Bu teknik, tüm kromozomları ya da tekli özgün dizilimleri melezleştiren DNA problemlerini kullanır ve G bantlı sitogenetik analiz için güçlü bir yardımcıdır. Bu teknik, prenatal, hematolojik ve solid tümör kromozomal analizlerde temel bir araştırma aracı olarak kullanılabilir. Fiksasyon ve denatürasyonun ardından, hedef DNA komplementer bir dizilime sahip, benzer bir denatüre, floresan etiketli DNA probuna tavlınmaya hazır hale gelir. Hibridizasyonu takiben, bağımsız ve belirsiz bağlı DNA probu kaldırılır ve DNA vizüalizasyonu için karşıt boyayla boyanır. Floresan mikroskop böylece hedef materyal üzerindeki melezleştirilmiş probun görüntülenmesini yapabilir.

Prob Bilgisi

TCF3 (*transkripsiyon faktörü 3*) geni 19p13.3'te bulunur. TCF3 içeren translokasyonlar çocukluk çağı B hücreli akut lenfoblastik lösemideki (ALL) en yaygın yeniden düzenlemelerden bazılarıdır^{1,2}.

Ana TCF3 ortaklarından ikisi 1q23.3'teki PBX1 (*PBX homeobox 1*) ve 17q22'deki HLF'dir (*PAR bZIP aile üyesi, HLF transkripsiyon faktörü*). Bunlar, sırasıyla TCF3-PBX1 ve TCF3-HLF füzyon genlerini oluşturan t(1;19)(q23;p13) ve t(17;19)(q22;p13) translokasyonlarının sonucu olarak TCF3'e kaynaştırılır. Nadir kriptik bir inversiyonun, inv(19)(p13;q13), TCF3'ü TFPT'ye kaynaştırdığı (*TCF3 füzyon ortağı*) ve TCF3-TFPT füzyon genini oluşturduğu bildirilmiştir¹.

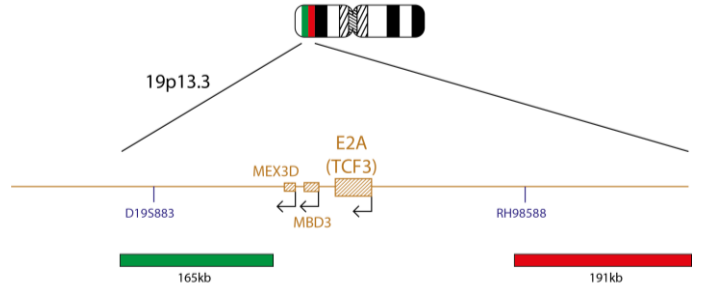
t(1;19)(q23;p13), çocukluk çağı B-ALL'lerinin yaklaşık %6'sında mevcut olan en yaygın TCF3 yeniden düzenlemesidir^{1,2}. Dünya Sağlık Örgütü (WHO) miyeloid neoplazma ve akut lösemi sınıflandırmasına göre t(1;19)(q23;p13); TCF3-PBX1 içeren B lenfoblastik lösemi/lenfoma farklı bir hastalık varlığı olarak kabul edilir². İşlevsel füzyon geni kromozom 19'da bulunur. Bu translokasyonun dengesiz bir biçimi, der(1) kaybıyla birlikte bildirilmiştir^{1,2}. FISH gibi moleküler yöntemlerle E2A-PBX1 füzyonunun tespit edilmesi, B-ALL'lerin bir alt kümesi TCF3 veya PBX1 içermeyen karyotipik olarak özdeş bir t(1;19) içerdiğinden önemlidir. E2A-PBX1 pozitif lösemi geçmişte kötü bir sonuçla ilişkilendirilmiş olmasına rağmen, modern yoğun tedaviler bunun üstesinden gelmiştir^{1,2,4}.

t(17;19)(q22;p13.) öncü B-ALL vakalarının yaklaşık %1'inde bulunan nadir bir translokasyondur¹. TCF3-HLF pozitif lösemi ters prognoz ile ilişkilidir^{3,4}.

Prob Spesifikasyonu

E2A, 19p13.3, Kırmızı

E2A, 19p13.3, Yeşil



E2A ürünü, RH98588 işaretleyici dahil olmak üzere E2A (TCF3) genine sentromerik olarak yerleştirilmiş, kırmızı etiketli bir 191 kb probu ve D19S883 işaretleyici dahil olmak üzere E2A genine telomerik olarak yerleştirilmiş bir 165 kb bölgeyi kapsayan yeşil bir probu içerir.

Tedarik Edilen Materyaller

Prob: Viyal başına 50 µl (5 test) ya da viyal başına 100 µl (10 test)

Problar, hibridizasyon çözeltisine (formamit; dekstran sülfat; salin-sodyum sitrat (SSC)) karıştırılmış olarak tedarik edilir ve kullanıma hazırdır.

Karşıt boya: Viyal başına 150 µl (15 test)

Karşıt boya, DAPI renk solması önleyici karışımdır (ES: 0,125 µg/ml DAPI (4,6-diamidino-2-fenilindol)).

Uyarılar ve Tedbirler

1. Yalnızca *in vitro* tanılama amaçlıdır. Yalnızca profesyonel kullanım içindir.
2. DNA problemlerini ve DAPI karşıt boyasını kullanırken eldiven giyin.
3. Prob karışımı bir teratojen olan formamit içermektedir; buharı solumayın ya da cildinize temas ettirmeyin. Kullanırken özen gösterin; eldiven ve laboratuvar önlüğü giyin.
4. DAPI'nın kanserojen potansiyeli vardır. Kullanırken özen gösterin; eldiven ve laboratuvar önlüğü giyin.
5. Tüm tehlikeli malzemeleri, kurumuzun tehlikeli atık boşaltımı kılavuzuna göre boşaltın.
6. Operatörler, kırmızı, mavi ve yeşil renkleri ayırt edebiliyor olmalıdır.
7. Belirtilen protokol ve reaktiflere bağlı kalınmaması, performansı etkileyebilir ve yanlış pozitif/negatif sonuçlara neden olabilir.
8. Bir prob diğer problemlerle seyreltilmemelidir ya da karıştırılmamalıdır.
9. Protokolün ön denatürasyon aşaması sırasında 10 µl prob kullanılmaması performansı etkileyebilir ve yanlış pozitif/negatif sonuçlara neden olabilir.

Muhafaza ve Kullanım

Aquarius® kiti, kit etiketinde belirtilen son kullanma tarihine kadar -25 °C ile -15 °C arasında bir dondurucuda muhafaza edilmelidir. Prob ve karşıt boya viyalleri karanlık bir ortamda muhafaza edilmelidir.



Prob, normal kullanım sırasında deneyimlenen donma-çözülme çevrimleri sırasında istikrarlı kalır (bir çevrim, probun dondurucudan alınması ve tekrar dondurucuya koyulmasından oluşur) ve sürekli ışığa maruz bırakılmasının ardından 48 saate kadar fotostabilir. Işığa ve sıcaklık değişimlerine maruz kalınmasının önüne geçmek için her türlü çaba sarf edilmelidir.

Gerekli Olan Fakat Tedarik Edilmeyen Teçhizat ve Materyaller

Kalibre edilmiş teçhizat kullanılmalıdır:

1. Isıtılmalı tabla (sert bir tabla ve 80 °C'ye kadar doğru sıcaklık kontrolü)
2. Kalibre edilmiş değişken hacimli mikropipet ve uç aralığı 1 µl-200 µl
3. Doğru sıcaklık kontrolünde (37 °C ve 72 °C) su banyosu
4. Mikrosantrifüj tüpler (0,5 ml)
5. Floresan mikroskop (Lütfen Floresan Mikroskop Önerisi bölümüne bakınız)
6. Faz kontrast mikroskobu
7. Temiz plastik, seramik ya da ısıya dayanıklı cam Coplin kavanozlar
8. Forseps
9. Kalibre edilmiş pH ölçüm cihazı (ya da pH 6,5-8,0 ölçebilen pH indikatör şeritler)
10. Nemli kap
11. Floresan dereceli mikroskop lensi immersiyon yağı
12. Tezgah üstü santrifüj
13. Mikroskop lamları
14. 24x24 mm lameller
15. Zamanlayıcı
16. 37 °C inkübatör
17. Kauçuk çözelti yapıştırıcısı
18. Vorteks mikser
19. Dereceli silindirler
20. Manyetik karıştırıcı
21. Kalibre edilmiş termometre

Tedarik Edilmeyen Tercihe Bağlı Teçhizat

1. Sitogenetik kurutma kabini

Gerekli Olan Fakat Tedarik Edilmeyen Reaktifler

1. 20x salin-sodyum sitrat (SSC) Çözeltisi
2. %100 Etanol
3. Tween-20
4. 1 M Sodyum hidroksit (NaOH)
5. 1 M Hidroklorik asit (HCl)
6. Artılmış su

Floresan Mikroskop Önerisi

Optimal vizüalizasyon için, 100 vat cıva buharlı lamba ya da muadili bir lamba ve yağ immersiyonu planı apokromat objektiflerini (60/63x ya da 100x) kullanın. Bu prob setinde kullanılan florofor şu dalga boylarını eksite eder ve yayar:

Florofor	Eksitasyon _{maks.} [nm]	Emisyon _{maks.} [nm]
Yeşil	495	521
Kırmızı	596	615

Mikroskoba yukarıda listelenen dalga boylarını kapsayan uygun eksitasyon ve emisyon filtrelerinin takıldığından emin olun. Yeşil ve kırmızı floroforların optimal eş zamanlı vizüalizasyonu için, üçlü DAPI/yeşil spektrum/kırmızı spektrum bant geçirci filtre ya da ikili yeşil/kırmızı spektrum bant geçirci filtre kullanın.

Doğru şekilde çalıştığından emin olmak için, floresan mikroskobu kullanmadan önce kontrol edin. Floresan mikroskoba uygun ve düşük otomatik floresan için formüle edilmiş immersiyon yağı kullanın. DAPI renk solması önleyici karışımı mikroskop immersiyon yağıyla karıştırmaktan kaçının. Bu, sinyalleri bozacaktır. Lamba ömrü ve filtrelerin yaşıyla ilgili olarak üreticilerin önerilerine riayet edin.

Numune Hazırlama

Kit, laboratuvar ya da kurumsal kılavuzlara göre hazırlanmış olan, Carnoy çözeltisi (3:1 metanol/asetik asit) fiksatifinde sabitlenmiş, hematolojik olarak üretilmiş hücre süspansiyonlarında kullanılmak üzere tasarlanmıştır. Havaıyla kurutulmuş numuneleri mikroskop lamları üzerinde standart sitogenetik prosedürlere uygun şekilde hazırlayın. AGT *Sitogenetik Laboratuvar Kılavuzu* numune toplama, kültürleme, hasat ve lam yapımı için öneriler içermektedir⁵.

Çözelti Hazırlama

Etanol Çözeltileri

Takip eden oranları kullanarak %100 etanolü artılmış su ile seyreltin ve iyice karıştırın.

- %70 Etanol-7 birim %100 etanol ve 3 birim artılmış su
 - %85 Etanol-8,5 birim %100 etanol ve 1,5 birim artılmış su
- Çözeltileri oda sıcaklığında, hava geçirmez bir kapta, 6 aya kadar muhafaza edin.

2xSSC Çözeltisi

1 birim 20xSSC Çözeltiyi 9 birim artılmış suyla seyreltin ve iyice karıştırın. pH'i kontrol edin ve NaOH ya da HCl kullanarak pH 7,0 olarak ayarlayın. Çözeltiyi oda sıcaklığında, hava geçirmez bir kapta, 4 haftaya kadar muhafaza edin.

0,4xSSC Çözeltisi

1 birim 20xSSC Çözeltiyi 49 birim artılmış suyla seyreltin ve iyice karıştırın. pH'i kontrol edin ve NaOH ya da HCl kullanarak pH 7,0 olarak ayarlayın. Çözeltiyi oda sıcaklığında, hava geçirmez bir kapta, 4 haftaya kadar muhafaza edin.

2xSSC, %0,05 Tween-20 Çözeltisi

1 birim 20xSSC Çözeltiyi 9 birim artılmış suyla seyreltin. Her 10 ml başına 5 µl Tween-20 ekleyin ve iyice karıştırın. pH'i kontrol edin ve NaOH ya da HCl kullanarak pH 7,0 olarak ayarlayın. Çözeltiyi oda sıcaklığında, hava geçirmez bir kapta, 4 haftaya kadar muhafaza edin.

FISH Protokolü

(Not: Proben ve karşıt boyanın laboratuvar ışıklarına maruz kalmamasına her zaman dikkat edin).

Lam Hazırlama

1. Hücre numunesini cam mikroskop lamı üzerine yerleştirin. Kurumaya izin verin. (**Sitogenetik bir kurutma kabini kullanıyorsanız tercihe bağlıdır**: lam üzerine damlatma sitogenetik kurutma kabini yapılmıştır. Optimal hücre numunesi damlatma için, kabin yaklaşık 25 °C'de ve %50 nemde işletilmelidir. Bir sitogenetik kurutma kabini mevcut değilse alternatif olarak bir davlumbaz kullanın).
2. Lamı 2 dakika boyunca, oda sıcaklığında ve ajitasyon olmadan 2xSSC içine daldırın.
3. Bir etanol serisinde (%70, %85 ve %100), 2 dakika boyunca, oda sıcaklığında dehidrasyon yapın.
4. Kurumaya izin verin.

Ön Denatürasyon

5. Probu dondurucudan çıkartın ve oda sıcaklığında ısınmasını sağlayın. Kullanmadan önce, tüpleri kısa süre santrifüj edin.
6. Prob çözeltisinin bir pipette karıştırıldığından ve çözeltinin eşit olarak dağıldığından emin olun.
7. Test başına probdan 10 µl alın ve bir mikrosantrifüj tüpüne aktarın. Kalan probu vakit kaybetmeden dondurucuya geri koyun.
8. 5 dakikalık ön ısıtma için, probu ve numune lamını 37 °C (+/- 1 °C) ısıtılmalı tabla üzerine koyun.
9. Prob karışımından 10 µl alıp hücre numunesi üzerine damlatın ve dikkatlice bir lamel uygulayın. Kauçuk çözelti yapıştırıcısıyla kapatın ve yapıştırıcının tamamen kurumasına izin verin.

Denatürasyon

10. Lamı ısıtılmalı tabla üzerinde 75 °C'de (+/- 1 °C), 2 dakika ısıtarak numuneyi ve probu eş zamanlı olarak denatüre edin.

Hibridizasyon

11. Lamı nemli, ışık geçirmez bir kap içinde, 37 °C'de (+/- 1 °C) bir gece bekletin.

Hibridizasyon Sonrası Yıkamalar

12. DAPI'yi dondurucudan çıkarın ve oda sıcaklığında ısınmasını sağlayın.
13. Lameli ve yapıştırıcının tüm izlerini dikkatlice kaldırın.
14. Lamı 2 dakika boyunca, 72 °C'de (+/- 1 °C) ve ajitasyon olmadan 0,4xSSC (pH 7,0) içine daldırın.
15. Lamı kurutun ve 30 saniye boyunca, oda sıcaklığında (pH 7,0) ve ajitasyon olmadan 2xSSC, %0,05 Tween-20 içine daldırın.
16. Lamı kurutun ve her bir numuneye 10 µl DAPI renk solması önleyici karışımı uygulayın.
17. Bir lamel ile üstünü kapatın, baloncukları giderin ve 10 dakika boyunca karanlıkta bekleterek rengin belirginleşmesini sağlayın.
18. Floresan mikroskop kullanarak izleyin (bakınız **Floresan Mikroskop Önerisi**).

Kullanılmış Lamaların Stabilitesi

Eğer karanlık ve oda sıcaklığında ya da oda sıcaklığının altında bir ortamda muhafaza edilirse, kullanılmış lamlarla 1 aya kadar yeniden analiz yapılabilir.

Prosedürel Öneriler

1. Lamaların ısıtılması ya da yıpranması, sinyal floresanını düşürebilir
2. Cytocell Ltd'nin tedarik ettiği ya da önerdiği reaktifler haricinde reaktifler kullanmak, hibridizasyon koşullarını olumsuz etkileyebilir
3. Bu sıcaklıklar optimum ürün performansı açısından kritik olduğu için, çözelti, su banyosu ve inkübatör sıcaklıklarını ölçmek için kalibre edilmiş bir termometre kullanın.
4. Düşük sertlik probun belirsiz bağlanmasıyla ve çok yüksek sertlik sinyal yokluğuyla sonuçlanabileceği için, yıkama konsantrasyonları, pH ve sıcaklıklar önemlidir
5. Tamamlanmamış denatürasyon sinyal yokluğuna, aşırı denatürasyon ise belirsiz bağlanmaya neden olabilir
6. Aşırı hibridizasyon ilave ya da beklenmeyen sinyallerin ortaya çıkmasıyla sonuçlanabilir
7. Kullanıcılar, testi tanılama amaçlı olarak kullanmadan önce, protokolü kendi numunelerine göre optimize etmelidirler
8. Optimal altı koşullar, belirsiz bağlanmanın yanlış şekilde prob sinyali olarak yorumlanmasına neden olabilir

Sonuçların Yorumlanması

Lam Kalitesinin Değerlendirilmesi

Aşağıdaki durumlarda lam analiz edilmemelidir:

- Sinyaller, tekli filtrelerle analiz yapmak için çok zayıfsa - analize devam etmek için, sinyaller parlak, ayırt edilebilir ve kolay değerlendirilebilir olmalıdır
- Analize engel olan, çok sayıda kümelenmiş/üst üste binmiş hücre varsa
- Hücrelerin >%50'si melezleştirilmemişse
- Hücreler arasında fazla floresan partikül ve/ya da sinyalleri bozan bir floresan bulanıklığı varsa - Optimal lamlarda arka plan koyu ya da siyah ve temiz görünmelidir
- Hücre çekirdekleri arasında sınırlar ayırt edilemiyorsa ve intakt değilse

Analiz Kılavuzları

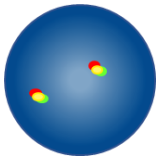
- Her numuneyi iki analist analiz etmeli ve yorumlamalıdır. Herhangi bir tutarsızlık üçüncü bir analist tarafından değerlendirilerek çözülmelidir
- Analistlerin hepsi geçerli ulusal standartların öngördüğü vasıflara sahip olmalıdır

- Her analist, her numune için bağımsız olarak 100 çekirdek almalıdır. Birinci analist lamin sol tarafından, ikinci analist lamin sağ tarafından analize başlamalıdır
- Her bir analist elde ettiği sonuçları ayrı tablolara kaydetmelidir
- Yalnızca intakt çekirdekleri analiz edin. Üst üste binmiş, kümelenmiş ya da sitoplazmik kalıntılarla veya yüksek derece otofloresanla kaplı çekirdekleri analiz etmeyin
- Çok fazla sitoplazmik kalıntı ya da belirsiz hibridizasyon olan alanlardan kaçın
- Sinyal yoğunluğu, tek bir çekirdekte bile değişebilir. Bu durumlarda, tekli filtreler kullanın ve/ya da odak düzlemini ayarlayın
- Sinyaller optimal altı koşullarda difüze olarak görülebilir. Eğer aynı rengin iki sinyali birbirine değişiyorsa ya da bu iki sinyalin arasındaki uzaklık iki sinyal genişliğinden daha büyük değilse veya bu iki sinyali birbirine bağlayan zayıf bir zincir varsa, bu iki sinyal tek olarak kabul edilir
- İki renkli ayırma probunu analiz ederken aralarında iki sinyal genişliğinden daha dar olan bir boşluk bulunan kırmızı ve yeşil sinyaller varsa bunlar yeniden düzenlenmemiş/kaynaştırılmamış sinyal olarak sayılırlar
- Hücrenin analiz edilebilir olup olmadığından emin değilseniz, analiz yapmayın

Analiz Kılavuzları	
	Saymanın - çekirdeklerin sınırları belirlenemeyecek kadar birbirine çok yakın
	Üst üste binmiş çekirdekleri saymanın - her iki çekirdeğin tüm alanları görünmez
	İki füzyon sinyali olarak sayın - kırmızı sinyal ile yeşil sinyal arasındaki boşluk iki sinyal genişliğinden azdır
	İki füzyon sinyali olarak sayın - bir füzyon sinyali dağıntıdır

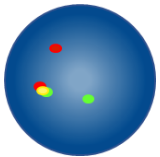
Beklenen Sonuçlar

Beklenen normal sinyal örüntüsü



Normal bir hücrede, iki kırmızı/yeşil füzyon sinyali beklenir (2F).

Beklenen anormal sinyal örüntüsü



Dengeli bir E2A (TCF3) yeniden düzenlemesi olan bir hücrede, beklenen sinyal örüntüsü bir kırmızı, bir yeşil ve bir füzyon olur (1K, 1Y, 1F).

Anöploid/dengesiz numunelerde diğer sinyal örüntüleri mümkündür.

Bilinen Çapraz Reaktivite

Bilinen çapraz reaktivite yok.

Olumsuz Durum Raporlaması

Eğer bu cihazın işlevini yeterli şekilde yerine getirmediğini ya da performansının olumsuz durumları (örn. gecikmiş ya da yanlış teşhis, gecikmiş ya da yanlış tedavi)

daha da ağırlaştırarak şekilde kötüleştiğini düşünüyorsanız, bunu hemen üreticiye bildirin (**e-posta**: vigilance@ogt.com).

Eğer mümkünse durumu yetkili ulusal makama da bildirmelisiniz.

Vijilans temas noktalarının bir listesini şurada bulabilirsiniz:

<http://ec.europa.eu/growth/sectors/medical-devices/contacts/>.

Spesifik Performans Özellikleri

Analytik Belirlilik

Analytik belirlilik, doğru lokusa melezleştirilmiş ve başka bir konuma melezleştirilmemiş sinyallerin yüzdesidir. Analytik belirlilik, toplam 200 hedef lokusun analiziyle tespit edildi. Analytik belirlilik, doğru lokusa melezleştirilmiş FISH sinyalleri sayısının, toplam melezleştirilmiş FISH sinyalleri sayısına bölünmesiyle hesaplandı.

Tablo 1. E2A Breakpart Probe için Analytik Belirlilik

Prob	Hedef Lokus	Doğru Lokusa Melezleştirilmiş Sinyallerin Sayısı	Melezleştirilmiş Sinyallerin Toplam Sayısı	Belirlilik (%)
Kırmızı E2A	19p13	200	200	100
Yeşil E2A	19p13	200	200	100

Analytik Hassasiyet

Analytik hassasiyet, beklenen normal sinyal örüntüsü olan, skorlanabilir interfaz hücrelerinin yüzdesidir. Analytik hassasiyet, farklı normal numuneler üzerinden interfaz hücreleri analiz edilerek belirlendi. Hassasiyet, beklenen sinyal örüntüsüne sahip, skorlanabilir hücrelerin yüzdesi olarak hesaplandı (%95 güven aralığı).

Tablo 2. E2A Breakpart Probe için Analytik Hassasiyet

Beklenen Sinyal Örüntülü Hücrelerin Sayısı	Skorlanabilir Sinyalli Hücrelerin Sayısı	Hassasiyet (%)	%95 Güven Aralığı
386	400	96,5	1,7

Normal Eşik Değerleri Karakterizasyonu

FISH problemleri birlikte normal eşik değeri, bir numunenin bu sinyal örüntüsü için normal kabul edileceği spesifik anormal sinyal örüntülü, skorlanabilir interfaz hücresi maksimum yüzdesidir.

Normal eşik değeri, normal ve pozitif hastalardan alınan numuneler kullanılarak belirlendi. Her numune için, 100 hücrenin sinyal örüntüleri kaydedildi. Youden indeksi, Hassasiyet + Belirlilik-1'in maksimize olduğu eşik değeri bulmak için hesaplandı.

Tablo 3. E2A Breakpart Probe için Normal Eşik Değerleri Karakterizasyonu

Anormal sinyal örüntüsü	Youden İndeksi	Normal Eşik (%)
1K, 1Y, 1F	0,99	6

Laboratuvarlar eşik değerlerini kendi verilerini kullanarak teyit etmelidirler^{6, 7}.

Kesinlik ve Yeniden Üretilirlik

Kesinlik, aynı koşullar altında, birkaç kez tekrar edilen bir testin doğal varyasyonunun ölçümüdür. Bu, aynı numune üzerinde, aynı koşullarda ve aynı gün test edilen probun aynı lot numarasının tekrarları analiz edilerek değerlendirildi.

Yeniden üretilebilirlik, bir testin değişebilirliğinin ölçülmesidir. Numuneden numuneye, günden güne ve partiden partiye değişebilirlik testleriyle belirlenir. Günden güne yeniden üretilebilirlik, aynı numunelerin farklı üç günde analiz edilmesiyle değerlendirildi. Partiden partiye yeniden üretilebilirlik, aynı numunelerin bir gün içinde üç farklı lot kullanılarak analiz edilmesiyle değerlendirildi. Numuneden numuneye yeniden üretilebilirlik, bir numunenin üç tekrarının bir gün içinde analiz edilmesiyle değerlendirildi. Her bir numune için, 100 interfaz hücrelerinin sinyal örüntüleri kaydedildi. Beklenen sinyal örüntülü hücrelerin yüzdesi de hesaplandı.

Yeniden üretilebilirlik ve kesinlik, her değişken ve genel ortalama Standart Sapma (STDEV) açısından, tekrarlar arasındaki STDEV olarak hesaplandı.

Tablo 4. E2A Breakpart Probe için Yeniden Üretilirlik ve Kesinlik

Değişken	Standart Sapma (STDEV)
Kesinlik	0,19
Numuneden numuneye	0,19
Günden güne	0,38
Partiden partiye	0,00
Genel Sapma	0,30

Klinik Performans

Klinik performans, ürünün hedef popülasyonunun temsili numunesiyle tespit edildi. Her numune için, ≥ 100 interfaz hücrenin sinyal örüntüleri kaydedildi. Normal/anormal determinasyonu, spesifik anormal sinyal örüntülü hücrelerin yüzdesinin normal eşik değeriyle karşılaştırılması vasıtasıyla belirlendi. Sonuçlar daha sonra numunenin bilinen durumuyla karşılaştırıldı.

Klinik verilerin sonuçları, hassasiyet, belirlilik ve eşik değerleri üretmek için tek boyutlu bir yaklaşım kullanılarak analiz edildi.

Tablo 5. E2A Breakapart Probe için Klinik Performans

Değişken	Sonuç
Klinik Hassasiyet (gerçek pozitif oran, TPR)	%100
Klinik Belirlilik (gerçek negatif oran, TNR)	%99,8
Yanlış Pozitif oran (FPR) = 1 – Belirlilik	%0,2

Ek Bilgiler

Ürünle ilgili daha fazla bilgi almak için CytoCell Teknik Destek Bölümü ile iletişime geçin.

Tel: +44 (0)1223 294048




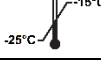


E-posta: techsupport@cytozell.com

Web sitesi: www.ogt.com

Referanslar

1. Van der Burg *et al.*, Leukemia 2004;18(5):895-908
2. Swerdlow *et al.*, (eds.) WHO Classification of Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissue, Lyon, France, 4th edition, IARC,2017
3. Mullighan, The Journal of Clinical Investigation 2012;122(10):3407-3415
4. Moorman *et al.*, Lancet Oncol Haematol. January 2012
5. Arsham, MS., Barch, MJ. and Lawce HJ. (eds.) (2017) *The AGT Cytogenetics Laboratory Manual*. New Jersey: John Wiley & Sons Inc.
6. Mascarello JT, Hirsch B, Kearney HM, et al. Section E9 of the American College of Medical Genetics technical standards and guidelines: fluorescence in situ hybridization. Genet Med. 2011;13(7):667-675.
7. Wiktor AE, Dyke DLV, Stupca PJ, Ketterling RP, Thorland EC, Shearer BM, Fink SR, Stockero KJ, Majorowicz JR, Dewald GW. *Preclinical validation of fluorescence in situ hybridization assays for clinical practice*. Genetics in Medicine. 2006;8(1):16–23.

Sembol Kılavuzu

REF	tr: Katalog numarası
IVD	tr: <i>In vitro</i> tıbbi tanılama cihazı
LOT	tr: Parti kodu
	tr: Kullanım talimatlarına bakın
	tr: Üretici
	tr: Son kullanım tarihi
	tr: Sıcaklık sınırı
	tr: Güneş ışığından koruyun
	tr: <n> test için yeterlidir
CONT	tr: İçindekiler

Patentler ve Markalar

CytoCell, Cytozell Ltd'nin tescilli ticari markasıdır.



Cytozell Ltd.

Oxford Gene Technology,
418 Cambridge Science Park,
Milton Road,
Cambridge, CB4 0PZ, Birleşik Krallık
Tel: +44(0)1223 294048
F: +44(0)1223 294986
E-posta: probes@cytozell.com
Web sitesi: www.ogt.com