



A Sysmex Group Company



Kullanım Talimatları

REF: LPH 101-S / LPH 101

BCR/ABL (v2) Translocation, Dual Fusion Probe



YALNIZCA PROFESYONEL KULLANIM İÇİNDİR



www.cytozell.com

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

Sınırlamalar

Bu cihaz, *IGH* ve *MAF* bölgelerini içeren bu prob setindeki kırmızı ve yeşil klonlara bağlanmış bölgedeki kırılma noktalarının yeniden düzenlemelerini tespit etmek için tasarlanmıştır. Bu bölge dışındaki bekleme noktaları ya da tümüyle bu bölge dahilinde olan çeşitli yeniden düzenlemeler 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 bulundurularak 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 bilgilerini de göz önünde bulundurmalıdır. Bu set, 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 set, belirlenen kullanım amacının dışındaki amaçlarla kullanılması için valide edilmemiştir.

Kullanım Amacı

CytoCell *IGH/MAF* Translocation, Dual Fusion Probe, doğrulanmış veya şüpheli multipl miyelomlu (MM) hastalardan alınan hematolojik olarak türetilmiş hücre süspansiyonları sabitlenmiş Carnoy çözeltisinde (3:1 metanol/asetik asit) bulunan kromozom 14 üzerindeki 14q32.3 bölgesi ile kromozom 16 üzerindeki 16q23 bölgesi arasındaki kromozomal yeniden düzenlemeleri tespit etmek için *yerinde* hibridizasyon (FISH) testinde kullanılan kalitatif, otomatik olmayan bir floresandır.

Endikasyonlar

Bu ürün, tanısal ve klinik bakım yollarında, *IGH-MAF* translokasyon durumu bilgisinin klinik yönetim için önemli olacağı bilinen, diğer klinik ve histopatolojik testlere ek olarak tasarlanmıştır.

Test Prensipleri

Floresan *yerinde* hibridizasyonu (FISH), DNA dizilimlerinin metafaz kromozomlar üzerinde ya da sabit sitogenetik numunelerden alınan arafaz çekirdeklere tespit edilmesine yardımcı olan bir tekniktir. Bu teknik, tüm kromozomları ya da teki özgün dizilimleri melezleştiren DNA problemleri 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 komplemanı bir dizilime sahip, benzer bir denatüre, floresan etiketli DNA probuna tavlama hazır hale gelir. Melezlemeyi takiben, başsız ve belirsiz bağlı DNA probu kaldırılır ve DNA vizüalizasyon için karşı boyayla boyanır. Floresan mikroskop böylece hedef materyal üzerindeki melezlenmiş probun görüntülenmesini yapabilir.

Prob Hakkında Bilgi

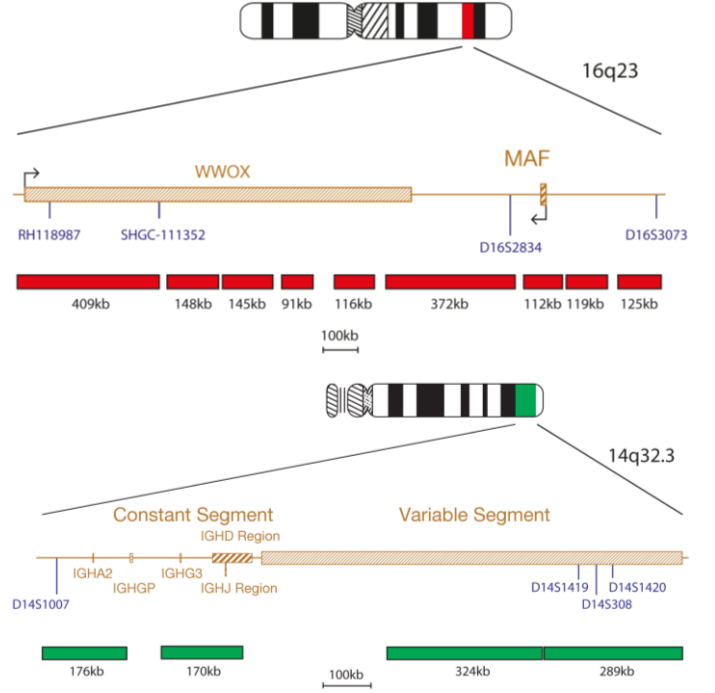
MAF (*MAF bZIP transkripsiyon faktörü*) geni 16q23 ve 14q32.3'te *IGH*'de (*immüoglobulin ağır lokusu*) bulunur. Multipl miyeloma (MM) vakalarının yaklaşık %50-60'ı *IGH* ve *CCND1*, *NSD2* (*WHSC1*) ve *FGFR3*, *CCND3*, *MAF* veya *MAFB* de içeren partnerlerden birini içeren translokasyonlarla ilişkilidir. T (14; 16) (q32.3; q23) translokasyon, MMs'in %2-10'unda görülen tekrarlayan bir translokasyondur.

Ayrılma noktalarının çoğunluğu, *MAF*'ye sentromerik *WVVOX*'in son intronunda (*oksidoredüktaz içeren WVVO alanı*) meydana gelir. Bu sınır değerlerin, *IGH* arttırıcısını *MAF*'in yanına yerleştirme ve *WVVOX* genini bozma konusunda ikili bir etkisi vardır². Miyelom hücre çizgilerinin gen ekspresyon profili, *MAF*'nin sıklık D2'sinin (hücre döngüsü ilerlemesinin destekleyicisi) transaktivasyonuna neden olduğunu ve böylece miyelom hücrelerinin proliferasyonunu arttırdığını ortaya koymuştur³.

Literatüre göre, t'yi barındıran MM hastalarının (14;16) daha agresif bir klinik sonucu olduğu görülmektedir^{4,5}.

Sondanın Teknik Özellikleri

MAF, 16q23, Kırmızı
IGH, 14q32.3, Yeşil



IGH / MAF v2 Translocation, Dual Fusion Probe, yeşil renkle etiketlenmiş *IGH* prob karışımından oluşur; *IGH* geninin Constant, J, D ve Variable segmentlerinin ve kırmızı ile etiketlenmiş *MAF* prob karışımının kısımlarını kapsayan; bu, *MAF* genini ve yan bölgeleri ve *WVVOX* genini kapsar.

Tedarik Edilen Materyaller

Prob: Viyal başına 50µl (5 test) ya da viyal başına 100µl (10 test)
Probal, hibridizasyon çözeltisinde (formamit, dekstran sülfat; salin-sodyum sitrat (SSS)) karıştırılmış olarak tedarik edilir ve kullanıma hazırdır.

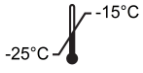
Karşıit Boya: Viyal başına 150 µl (15 test)

Karşıit boya, DAPI renk solması karşıtı karışımıdır (ES: 0, 125 µg/ml DAPI (4,6-diamidino-2-fenilindol)).

Uyarılar ve Tedbirler

1. Yalnızca *yerinde* tanılama amaçlıdır. Yalnızca profesyonel kullanım içindir.
2. DNA problemleri ve DAPI karşıit boyasını kullanırken eldiven giyin.
3. Prob karışımları bir teratojen olan formamit içermektedir; buharı solumayın ya da cildinize temas ettirmeyin. Kullanırken özen gösterin; eldiven ve laboratuvar önlüğü giyin.
4. DAPI'nin 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 10µl prob kullanılmaması, performansı etkileyebilir ve yanlış pozitif/negatif sonuçlara neden olabilir.

Muhafaza ve Kullanım



Seti, setin etiketinde belirtilen son kullanma tarihine kadar -25°C ile -15°C arasında bir dondurucuda muhafaza edilmelidir. Prob ve karşıt boya şişeleri 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 işığa maruz bırakılmasının ardından 48 saat kadar fotostabildir. İşığa ve sıcaklık değişimlerine maruz kalınmasının önüne geçmek için her türlü çaba sarf edilmelidir.

Gerekli Olan Fakat Tedarik Edilmemiş Teçhizat ve Malzemeler

Kalibre edilmiş teçhizat kullanılmalıdır:

1. Isıtmalı tabla (sert bir tabla ve 80°C'ye kadar doğru sıcaklık kontrolü)
2. Kalibre edilmiş değişken hacimli mikropipet ve uç aralığı 1µl - 200µl
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 mikroskopu
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 ölçeklenen pH indikatör şeritler)
10. Nemli kap
11. Floresan dereceli mikroskop lensi immersiyon yağı
12. Tezgah üstü santrifüj
13. Mikroskop lamaları
14. 24x24 mm lamel
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. 1M Sodyum Hidroksit (NaOH)
5. 1M Hidroklorik asit (HCl)
6. Artırılmış 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

Yukarıda listelenen ses dalgalarını kapsayan eksitasyon ve emisyon filtrelerinin mikroskoba uydüğundan emin olun. Yeşil ve kırmızı floroforların optimal eş zamanlı vizüalizasyonu için, üçü DAPI/yeşil spektrum/kırmızı spektrum bant geçirici filtre ya da ikili yeşil/kırmızı spektrum bant geçirici filtre kullanın.

Doğru şekilde çalıştığından emin olmak için, floresan mikroskopu 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

Bu set, laboratuvar ya da kurumsal kılavuzlara göre hazırlanmış olan, Carnoy çözeltisi (3:1 metanol/asetik asit) fiksatifinde sabitlenmiş, hematolojik olarak türetilmiş hücre süspansiyonlarında kullanılmak üzere tasarlanmıştır. Havaya kurutulmuş numuneleri mikroskop lamaları üzerinde standart sitogenetik prosedürlere uygun şekilde hazırlayın. AGT *Sitogenetik Laboratuvar Kılavuzu*, numune toplama, kültürlenme, hasat ve lam yapımı için öneriler içermektedir⁷.

Çözelti Hazırlama

Etanol Çözeltileri

Takip eden oranları ve karışımları kullanarak %100 etanolü artırılmış su ile seyreltin:

- %70 Etanol - 7 birim %100 etanol ve 3 birim artırılmış su
 - %85 Etanol - 8,5 birim %100 etanol ve 1,5 birim artırılmış su
- Çözeltileri hava geçirmez bir kaptaki 6 ay boyunca oda sıcaklığında muhafaza edin.

2xSSC Çözeltisi

1 birim 20xSSC Çözeltiyi 9 birim artırılmış 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 kaptaki 4 haftaya kadar muhafaza edin.

0.4xSSC Çözeltisi

1 birim 20xSSC Çözeltiyi 49 birim artırılmış 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 kaptaki 4 haftaya kadar muhafaza edin.

2xSSS, %0.05 Tween-20 Çözeltisi

1 birim 20xSSC Çözeltiyi 9 birim artırılmış suyla seyreltin. Her 10 ml başına 5µl 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 kaptaki 4 haftaya kadar muhafaza edin.

FISH Protokolü

(Not: Probu ve karşı boyanın laboratuvar ışıklarına maruz kalmamasına her zaman dikkat edin).

Lam Hazırlama

1. Hücre numunesini cam mikroskop lam üzerine yerleştirin. Kurumaya izin verin. **(Sitogenetik bir kurutma kabini kullanıyorsanız, tercihe bağlıdır: lam üzerine damlatma sitogenetik kurutma kabini kullanılarak yapılmalıdır. 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 pipetle karıştırıldığından ve çözeltinin eşit olarak dağıldığından emin olun.
7. Test başına probtan 10µl 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) ısıtmalı tabla üzerine koyun.
9. Prob karışımından 10µl alıp hücre numunesi üzerine damlatın ve dikkatlice bir lamel uygulayın. Kauçuk çözelti yapıştırıcısıyla kapatın ve yapıştırıcının tamamen kurumasına izin verin.

Denatürasyon

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

Mezleştirme

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

Mezleme Sonrası Yıkamalar

12. DAPI'yı 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) 2xSSC, %0,05 Tween-20 içine daldırın.
16. Lamı kurutun ve her bir numuneye 10µl 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 izleme yapın (bakınız **Floresan Mikroskop Önerisi**).

Kullanılmış Lamaların Stabilitesi

Eğer karanlık ve oda sıcaklığında ya da oda sıcaklığının altında bir ortamda muhafaza edilirse, kullanılmış lamalarla 1 ay 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 kullanılmak, mezleştirme 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 mezleştirme ilave ya da beklenmeyen sinyallerin ortaya çıkmasıyla sonuçlanabilir.
7. Kullanıcılar, testi tanılama amaçlı olarak kullanmadan önce, protokdü kendi numunelerine göre optimize etmelidir.
8. Optimal altı koşullar, belirsiz bağlanmanın yanlış şekilde prob sinyali olarak yorumlanmasına neden olabilir.

Sonuçların Yorumlanması

Lam Kalitesinin Değerlendirilmesi

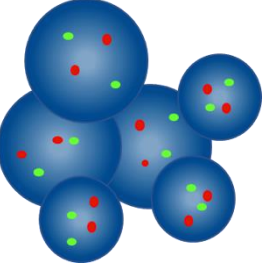
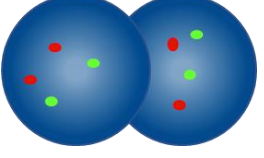
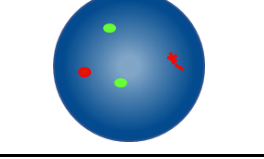
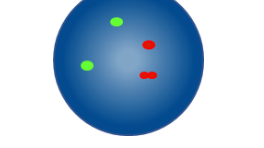
Aşağıdaki durumlarda lam analiz edilmemelidir:

- Sinyaller, tekli filtrelerle analiz yapmak için çok zayıf - 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 mezleştirilmemişse

- 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

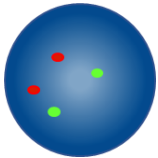
Analiz Kılavuzları

- Her numuneyi iki analist analiz etmeli ve yorumlamalıdır. Herhangi bir tutarsızlık üçüncü bir analist tarafından değerlendirilerek çözümlenmelidir
- 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 kaçının
- Sinyal yoğunluğu, tek bir çekirdekte bile değişebilir. Bu durumlarda, teki filtreler kullanın ve/ya da odak düzlemini ayarlayın
- Optimal altı koşullarda difüze olarak görünebilir. Eğer aynı rengin iki sinyali birbirine değişirse 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
- Hücresinin analiz edilebilir olup olmadığından emin değilseniz, analiz yapmayın

Analiz Kılavuzları	
	Saymanın - çekirdeklerin sınırları belirlenemeyecek kadar birbirine çok yakın
	Örtüşen çekirdekleri saymayın - her iki çekirdeğin tüm alanları görünmez
	İki kırmızı sinyal ve iki yeşil sinyal olarak sayın - iki kırmızı sinyalden biri dağılıktır
	İki kırmızı sinyal ve iki yeşil sinyal olarak sayın - bir kırmızı sinyaldeki boşluk iki sinyal genişliğinden azdır

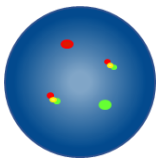
Beklenen Sonuçlar

Beklenen Normal Sinyal Örüntüsü



Normal bir hücrede, iki kırmızı ve iki yeşil sinyal (2K, 2Y) olması beklenir.

Beklenen Anormal Sinyal Örüntüleri



T (14; 16) (q32.3; q23) translokasyonu olan bir hücrede, beklenen sinyal modeli bir kırmızı, bir yeşil ve iki füzyon sinyalleri (1K, 1Y, 2F) olacaktır.

Anöploid/dengesiz numunelerde diğer sinyal örüntüleri mümkündür. IGH/MAF translokasyonu haricindeki diğer IGH yeniden düzenlemelerinin varlığında yeşil IGH sinyalinin bölünmüş bir şekilde görülebileceğini lütfen unutmayın.

Bilinen Çapraz Reaktivite

Yeşil IGH probu 15q11.2 ve 16p11.2'ye çapraz hibridizasyon gösterebilir.

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 (email: vigilance@ogt.com).

Eğer mümkünse durumu yetkil ulusal makama da bildirmelisiniz. Acil durumlar için iletişim noktalarının listesi şurada bulunabilir: <http://ec.europa.eu/growth/sectors/medical-devices/contacts/>.

Spesifik Performans Özellikleri

Analitik Belirlilik

Analitik özgüllük, doğru bölgeye hibritleşen ve başka bir konuma olmayan sinyallerin yüzdesi olarak tanımlanır. Beş örnekte bulunan yirmi metafaz hücrelerinin her birinde dört kromozomal lokus analiz edildi ve 400 veri noktası elde edildi. Her hibritleştirilmiş probun konumu haritalandı ve doğru lokusa hibritlenen metafaz kromozomundaki FISH sinyallerinin sayısı kaydedildi.

Kit içerisindeki her probun analitik özgüllüğü, toplam hibritleştirilmiş metafaz kromozomu FISH sinyallerinin sayısına bölünerek doğru bölgeye mezelenen metafaz kromozomu FISH sinyallerinin sayısı olarak hesaplandıktan sonra bulunan sonuç 100 ile çarpıldı, yüzde olarak ifade edildi ve %95 güven aralığında verildi.

Tablo 1. IGH/MAF v2 Translocation, Dual Fusion Probe için Analitik Belirlilik

Hedef	Hibritleştirilmiş metafaz kromozomlarının sayısı	Doğru hibritleştirilmiş lokus sayısı	Analitik Belirlilik	%95 Güven Aralığı
14q32.3	200	200	%100	%98,12 - %100
16q23	200	200	%100	%98,12 - %100

Analitik Hassasiyet

Analitik hassasiyet, beklenen normal sinyal örüntüsü olan, skorlanabilir arafaz hücrelerinin yüzdesidir. Bir IGH yeniden düzenlemesi için negatif ve 25 IGH negatif CD138+ hücre numunesi için negatif olan 25 karyotipik olarak normal sabit kemik iliği numunesi veya kemik iliği numunesinden her biri için en az 200 interfaz hücre analizi edildi ve bunun sonucunda her numune tipi için minimum 5000 çekirdek puan elde edildi. Duyarlılık verileri, beklenen normal bir sinyal düzenini gösteren hücrelerin yüzdesine dayanarak analiz edildi ve %95 güven aralığında bir yüzde olarak ifade edildi.

Tablo 2. IGH/MAF v2 Translocation, Dual Fusion Probe için Analitik Hassasiyet

Örnek Tipi	Hassasiyet Kriteri	Hassasiyet Sonucu
Kemik İliği	>%95	%97,8 ± %0,67
CD138+	>%95	%96,64 ± %0,78

Normal Kesim Değerleri Karakterizasyonu

Normal eşik, bir bireyin normal olarak kabul edilebileceği ve klinik bir tanı ile tutarlı olmadığı yanlış bir pozitif sinyal modeli gösteren hücrelerin yüzdesi olarak tanımlanır. Bir IGH yeniden düzenlemesi için negatif ve 25 IGH negatif CD138+ hücre numunesi için negatif olan 25 karyotipik olarak normal sabit kemik iliği numunesi veya kemik iliği numunesinden her biri için en az 200 interfaz hücre analizi edildi ve bunun sonucunda her numune tipi için minimum 5000 çekirdek puan elde edildi.

Eşik değeri, MS Excel'deki β -ters (BETAINV) fonksiyonu kullanılarak belirlendi. Normal bir hasta numunesindeki binom dağılımının %95 güven aralığının bir üst sınırını kullanarak yanlış pozitif sinyal paterni gösteren interfaz hücrelerinin yüzdesi olarak hesaplandı.

Tablo 3. IGH / MAF v2 Translocation, Dual Fusion Probe için Normal Kesim Değerlerinin Karakterizasyonu

Örnek Tipi	Eşik Sonuçları
Kemik İliği	%1,5
CD138+	%1,5

Laboratuvarlar kesim değerlerini kendi verilerini kullanarak teyit ederler^{7,8}.

Hassasiyet

Bu ürünün hassasiyeti gün içi hassasiyet (numuneden numuneye), günler arası hassasiyet (günden güne) ve tek bölgeli inter-lot hassasiyet (lotta lota) cinsinden ölçülmüştür.

Bu ürünün hassasiyetini değerlendirmek için üç örnek kullanıldı; normal kemik iliği numunesi (25 bireysel numuneden toplanmış), normal CD138+ numunesi (28 bireysel numuneden havuzlanmış) ve kulan geçirim çevresinde ürüne yükleme yapmak için (ürünün bilinen kesim noktası ile normal CD138+ numunesini bilinen bir pozitif ile elektrostimüle ederek oluşturulan ürünün kesim noktasının 2-4 katı) kullanılan düşük pozitif CD138+ örneği.

DS416/CE-tr v002.00/2020-12-01 (H024 v3 / H139 v1)

Gün içi ve günler arası hassasiyeti belirlemek için numuneler, ardışık olmayacak şekilde belirlenmiş beş farklı tarih boyunca değerlendirildi ve lottan lota hassasiyetini belirlemek için, aynı numunenin dört kopyası üzerinde üç lot ürünü değerlendirildi. Sonuçlar, öngörülen negatif sınıfla yapılan genel anlaşma olarak sunulmuştur (negatif örnekler için).

Tablo 4. IGH / MAF v2 Translocation, Dual Fusion Probe için Hassasiyet ve Tekrarlanabilirlik

Değişken	Örnek tipi	Anlaşma
Gün içi ve günler arası hassasiyet	Normal kemik iliği (negatif)	%100
	Normal CD138+ (negatif)	%100
	Düşük pozitif CD138+	%100
Lottan lota hassasiyet	Normal kemik iliği (negatif)	%100
	Normal CD138+ (negatif)	%100
	Düşük pozitif CD138+	%100

Klinik Performans

Ürünün amaçlanan yeniden düzenlemeleri tespit etmesini sağlamak amacıyla ürün için amaçlanan popülasyonun temsili örnekleri üzerinde iki çalışma üzerinde klinik performans sağlandı: Birinde CD138+ örnekleri, diğ erinde ise kemik iliği örnekleri kullanıldı. Her bir çalışma için belirtilen örnek sayısı, beş IGH-MAF füzyon pozitif örneği ve on beş IGH-MAF füzyon negatif örneği hedef popülasyonu olacak şekilde, yirmi numuneden oluşmaktaydı. Analiz önyargısını önlemek için tüm örneklerin kimliği gizlenmiş ve randomize edilmiştir. Sonuçlar daha sonra numunenin bilinen durumuyla karşılaştırıldı. Prob, her durumda örneklerin durumunu doğru bir şekilde tanımladı.

Bu testlerin sonuçları, tek boyutlu bir yaklaşım kullanarak pozitif sinyaller için klinik duyarlılık, klinik özgüllük ve yanlış pozitif oran (FPR) değerleri sağlamak amacıyla analiz edildi.

Tablo 5. IGH / MAF v2 Translocation, Dual Fusion Probe için Klinik Performans

Değişken	Sonuç
Klinik Hassasiyet (gerçek pozitif oran, TPR)	%97,3
Klinik Hassasiyet (gerçek negatif oran, TPR)	%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.

T: +44 (0)1223 294048

E: techsupport@cyto cell.com

W: www.ogt.com

Referanslar

- 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.

Sembol Kılavuzu

REF	tr: Katalog numarası
IVD	tr: Yerde 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> testleri için yeterlidir
CONT	tr: İçindekiler

Patent ve Markalar

CytoCell, Cyto cell Ltd.'nin tescilli ticari markasıdır.

Cyto cell Ltd.

Oxford Gene Technology,
418 Cambridge Science Park,
Milton Road,
Cambridge, CB4 0PZ, Birleşik Krallık
T: +44(0)1223 294048
F: +44(0)1223 294986
E: probes@cyto cell.com
W: www.ogt.com

