



A Sysmex Group Company



### Kullanım Talimatları

REF: LPH 036-S / LPH 036

## EV11 (MECOM) Breakapart Probe



YALNIZCA PROFESYONEL KULLANIM İÇİNDİR



www.cytozell.com

Daha fazla bilgi ve diğer dil seçeneklerini [www.ogt.com](http://www.ogt.com) adresinde bulabilirsiniz

### Sınırlamalar

Bu cihaz, EV11 (MECOM) bölgesini içeren bu prob setindeki kırmızı, yeşil ve mavi 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 edilemez.

Bu test şunlar için kullanılmaz: bağımsız tanılama, prenatal test, popülasyon bazlı tarama, hasta başında test ya da kendi kendine test. Bu ürün yalnızca laboratuvar ortamında profesyonel kullanım içindir; 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 kit, tanılama amaçlı diğer laboratuvar testlerine yardımcı olması için kullanılmamalıdır. 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 EV11 (MECOM) Breakapart Probe, doğrulanmış veya şüpheli akut miyeloid lösemili (AML) veya miyelodisplastik sendromlu (MDS) hastalardan alınan, Carnoy çözeltisinde (3:1 metanol/asetik asit) sabitlenmiş ve hematolojik olarak türetilmiş hücre süspansiyonlarında kromozom 3 üzerindeki 3q26.2 bölgesini içeren kromozomal yeniden düzenlemeleri tespit etmek için kullanılan, kalitatif, otomatik olmayan bir floresans yerinde hibridizasyon (FISH) testidir.

### Endikasyonlar

Bu ürün, onaylanmış tanısal ve klinik bakım yollarında, EV11 (MECOM) translokasyon durumu bilgisinin klinik yönetim için önemli olacağı, 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 interfaz çekirdeklerde tespit edilmesine yardımcı olan bir tekniktir. Bu teknik, tüm kromozomları ya da teklî 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 vizüalizasyon için karşıt boyayla boyanır. Floresan mikroskopisi böylece hedef materyal üzerindeki melezleştirilmiş probun vizüalizasyonunu yapabilir.

### Prob Bilgisi

3q26.2'deki MECOM (MDS1 ve EV11 karmaşık lokusu) onkogeni sıklıkla miyeloid kaynaklı hematolojik malignitelerde yeniden düzenlenir.

MECOM, AML ve MDS hastalarının %2-5'i arasındaki lösemik hücrelerde uygun şekilde ortaya çıkan çinko parmak proteinini kodlar<sup>1</sup>. Bu düzensiz ekspresyonun nedeni, en sık rastlanan iki sapma ile birlikte 3q26.2'yi içeren bir kromozomal yeniden düzenlemedir. Bu sapmalar t(3;3)(q21;q26.2) ve inv(3)(q21q26.2)'dir<sup>1</sup>. Translokasyonlar ve inversiyonlar için ayrılma noktaları değişkendir.

Inversiyon ayrılma noktaları, MECOM genine sentromeriktir ve bu geni içine alıp yaklaşık 600 kb'yi kapsar. 3q26.2 translokasyonlarındaki ayrılma noktalarının çoğunluğu MECOM genine telomeriktir ve MDS1 geninin telomerik ucu ile MYNN genini içeren bir bölgeyi kapsar<sup>2</sup>.

3q26.2 bölgesini içeren kromozom yeniden düzenlemeleri, miyeloid maligniteler, MECOM geninin anormal ekspresyonu, elverişsiz bir prognoz ve agresif bir klinik seyir ile ilişkilendirilir<sup>2</sup>.

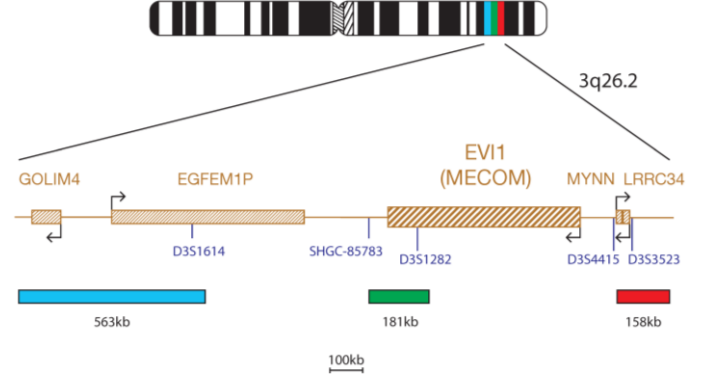
Dünya Sağlık Örgütü (WHO) miyeloid neoplazma ve akut lösemi sınıflandırmasına göre, inv(3)(q21q26.2) ya da t(3;3)(q21;q26.2) içeren AML bir hastalık varlığı olarak kabul edilmiştir. Bu, çok agresif bir klinik seyir ve 3q26.2'de MECOM'u ve 3q21'de RPN1'i (riboforin I) içeren sapmaları barındıran dönüştürülmüş veya yeni bir AML'dir<sup>3</sup>.

MECOM'un, t(3;21)(q26.2;q22) translokasyonu yoluyla terapi ile ilişkili hastalıkta da yeniden düzenlenebildiği ve bir MECOM- RUNX1 füzyonu ile sonuçlandığı gösterilmiştir<sup>3,4</sup>.

MECOM yeniden düzenlemeleri çok heterojendir ve konvensiyonel sitogenetik ile tespit edilmesi zor olabilir. Bu durum FISH'i tespitler için yararlı bir araç haline getirir.

### Prob Spesifikasyonu

EV11, 3q26.2, Kırmızı  
EV11, 3q26.2, Yeşil  
EV11, 3q26.2, Mavi



EV11 prob karışımının kırmızı bileşeni, D3S4415 işaretçisine telomerik bir 158 kb probdan oluşur ve LRRRC34 genini de içerir. Yeşil bileşen, EV11 (MECOM) geninin sentromerik bölümünü ve D3S1282 işaretçisinin ötesini içeren bir 181 kb bölgeyi kapsar. Mavi bileşen, D3S1614 işaretçisini içeren EV11 genine sentromerik bir 563 kb bölgeyi kapsar.

### 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 karışımları 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 materyalleri, 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

Bu kit, 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 fotostabilidir. 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 ölçeklenen pH indikatör şeritler)
10. Nemli kap
11. Floresan dereceli mikroskop lensi immersiyon yağı
12. Tezgah üstü santrifüj
13. Mikroskop lamaları
14. 24x24 mm lameller
15. Zamanlayıcı
16. 37 °C inkübatör
17. Kauçuk çözelti yapıştırıcısı
18. Vorteks mikser
19. Dereceli silindireler
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 vizüalizasyonu 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:

Flofor	Eksitasyon <sub>maks.</sub> [nm]	Emisyon <sub>maks.</sub> [nm]
Açık Mavi	418	467
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 geçirici filtre ya da ikili yeşil/kırmızı spektrum bant geçirici filtre kullanın. Açık mavi spektrumun optimal vizüalizasyonu için tek bir açık mavi spektrum bant geçirici filtre veya yeşil, kırmızı ve açık mavi floroforların eş zamanlı vizüalizasyonu için üçlü kırmızı spektrum/yeşil spektrum/açık mavi spektrum bant geçirici filtre kullanın.

Doğru şekilde çalıştığından emin olmak için, floresan mikroskobu kullanmadan önce kontrol edin. Floresan mikroskopisine 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. Havayla kurutulmuş numuneleri mikroskop lamaları üzerinde standart sitogenetik prosedürlere uygun şekilde hazırlayın. AGT *Sitogenetik Laboratuvar Kılavuzu* numune toplama, kültürleme, hasat ve lam yapımı için öneriler içermektedir<sup>5</sup>.

#### 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 kaptan, 6 aya kadar muhafaza edin.

#### 2xSSC Çözeltisi

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

#### 0,4xSSC Çözeltisi

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

#### FISH Protokolü

(Not: Proben ve karşı 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 kabiniinde 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 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

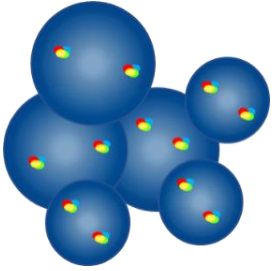
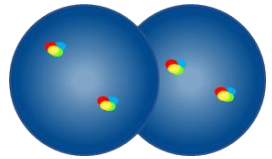
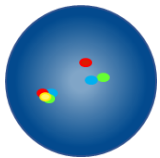
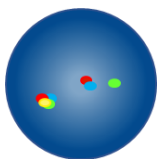
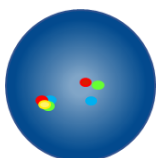
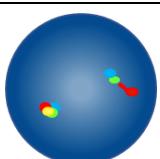
Aşağıdaki durumlarda lam analiz edilmemelidir:

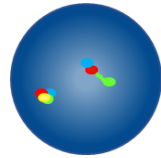
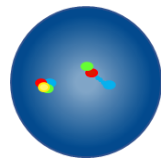
- Sinyaller, tekli filtrelerle analiz yapmak için çok zayıfsa - analize devam etmek için, sinyaller parlak, ayırt edilebilir ve kolay değerlendirilebilir olmalıdır
- Analize engel olan, çok sayıda kümelenmiş/üst üste binmiş hücre varsa
- Hücrelerin >%50'si melezleştirilmemişse

- Hücreler arasında fazla floresan partikül ve/veya sinyalleri bozan bir floresan bulanıklığı varsa - Optimal lamalarda 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 kaçınin
- Sinyal yoğunluğu, tek bir çekirdekte bile değişebilir. Bu durumlarda, tekli filtreler kullanın ve/ya da odak düzlemini ayarlayın
- Sinyaller 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 sinyali tek olarak sayın
- Üç renkli ayırma probunu analiz ederken, aralarında iki sinyal genişliğinden daha dar olan bir mesafe bulunan kırmızı, yeşil ve açık mavi sinyaller varsa, bunları yeniden düzenlenmemiş/füze edilmiş sinyal olarak sayın
- Hücresinin analiz edilebilir olup olmadığından emin değilseniz, analiz yapmayın

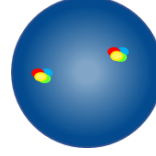
Analiz Kılavuzları	
	Saymayın - çekirdeklerin sınırları belirlenemeyecek kadar birbirine çok yakın
	Üst üste binmiş çekirdekleri saymayın - her iki çekirdeğin tüm alanları görünmez
	2 füzyon sinyali olarak sayın - kırmızı ile yeşil/mavi sinyal arasındaki mesafe iki sinyal genişliğinden azdır
	2 füzyon sinyali olarak sayın - yeşil ve kırmızı/mavi sinyal arasındaki mesafe iki sinyal genişliğinden azdır
	2 füzyon sinyali olarak sayın - mavi ile kırmızı/yeşil sinyal arasındaki mesafe iki sinyal genişliğinden azdır
	2 füzyon sinyali olarak sayın - sağ üst füzyonda kırmızı sinyal difüzdür

	2 füzyon sinyali olarak sayın - sağ üst füzyonda yeşil sinyal difüzdür
	2 füzyon sinyali olarak sayın - sağ üst füzyonda mavi sinyal difüzdür

#### Beklenen Sonuçlar

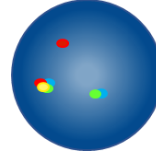
Üç renkli strateji, hem bir translokasyonun hem de bir inversiyonun varlığını gösterir ve her bir farklı yeniden düzenleme türünün ayırt edilmesine olanak sağlar.

#### Beklenen Normal Sinyal Örüntüsü

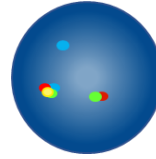


Normal bir hücrede, iki kırmızı/yeşil/mavi ortak yerleştirilebilir sinyal (2KYM) olması beklenir.

#### Beklenen Anormal Sinyal Örüntüsü



t(3;nn)(q26.2;nn) translokasyonlu bir hücrede, beklenen sinyal örüntüsü bir kırmızı, bir yeşil/mavi füzyon ve bir kırmızı/yeşil/mavi füzyon sinyali olur (1K, 1YM, 1KYM).



inv(3)(q21q26.2) inversiyonlu bir hücrede, beklenen sinyal örüntüsü bir kırmızı/yeşil füzyon, ayrı bir mavi sinyal ve bir kırmızı/yeşil/mavi füzyon sinyali olur (1KY, 1M, 1KYM).

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](mailto: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

##### Analitik Belirlilik

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

Tablo 1. EVI1 Breakapart Probe için Analitik Belirlilik

Prob	Hedef Lokus	Doğru Lokusa Melezleştirilmiş Sinyallerin Sayısı	Melezleştirilmiş Sinyallerin Toplam Sayısı	Belirlilik (%)
Kırmızı EVI1	3q26	200	200	100
Yeşil EVI1	3q26	200	200	100
Mavi EVI1	3q26	200	200	100

**Analitik Hassasiyet**

Analitik hassasiyet, beklenen normal sinyal örüntüsü olan, skorlanabilir interfaz hücrelerinin yüzdesidir. Analitik 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. EVI1 Breakapart Probe için Analitik Hassasiyet

Beklenen Sinyal Örüntüsü Hücrelerin Sayısı	Skorlanabilir Sinyalli Hücrelerin Sayısı	Hassasiyet (%)	%95 Güven Aralığı
4957	5000	99,14	98,84-99,36

**Normal Eşik Değerleri Karakterizasyonu**

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

Proben tespit etmesi amaçlanan yeniden düzenleme için negatif numuneler ve beta ters işlevi kullanılarak normal eşik değeri belirlenmiştir. Her bir numune için 100 interfaz çekirdeğin sinyal örüntüleri, toplamda her bir numune için 200 olarak iki bağımsız analiz tarafından kaydedilmiştir.

Tablo 3. EVI1 Breakapart Probe için Normal Eşik Değerleri Karakterizasyonu

Anormal sinyal örüntüsü	Eşik değeri oluşturmak için analiz edilen numune sayısı	Her bir numune için değerlendirilen çekirdek sayısı	Maks. yanlış pozitif sinyal örüntüsü sayısı	Normal eşik değeri (%)
1K,1YM,1KYM	25	200	3	4
1KY, 1M, 1KYM	25	200	3	4

Laboratuvarlar eşik değerlerini kendi verilerini kullanarak teyit etmelidirler<sup>6,7</sup>.

**Yeniden Üretilirlik**

Yeniden üretilebilirlik, altı kör numune (yeniden düzenleme için iki negatif, eşik değerinin 1 ila 3 katı iki düşük pozitif numune ve yeniden düzenleme için pozitif hücrelerin %45'inden fazlasını içeren iki yüksek pozitif numune) test eden üç ayrı laboratuvar tarafından oluşturulmuştur. Analiz, art arda olmayan beş gün boyunca her bir numunenin iki kopyası kullanılarak gerçekleştirildi.

Her üç bölge de aynı prob lotunu kullanarak gün içi, günler arası ve bölgeler arası testler gerçekleştirildi. Ayrıca bölgelerden birinde üç farklı prob lotu kullanılarak lotlar arası yeniden üretilebilirlik de test edildi.

Yeniden üretilebilirlik, her test sırasında incelenen değişkenler arasındaki uyum kullanılarak hesaplandı.

Tablo 4. EVI1 Breakapart Probe için Yeniden Üretilirlik ve Kesinlik

Sinyal	Yeniden üretilebilirlik çalışması	Numune	Uyum (%)
İnversiyon (1KY, 1M, 1KYM)	Gün içi/günler arası/bölgeler arası	Negatif	100
		Yüksek Pozitif	100
	Lotlar Arası	Negatif	92
		Yüksek Pozitif	100
Translokasyon (1K, 1YM, 1KYM)	Gün içi/günler arası/bölgeler arası	Negatif	100
		Yüksek Pozitif	100
	Lotlar Arası	Negatif	100
		Yüksek Pozitif	100

**Klinik Performans**

Klinik performans, bölgeden toplanan 100 örnek ile birlikte AML veya MDS için atıfta bulunulan temsili seçilmemiş hasta grubu kullanılarak oluşturuldu. Prob tarafından tespit edilen yeniden düzenlemelerin vaka oranları, literatür kaynaklarının gözden geçirilmesinden alınan vakalarla karşılaştırıldı.

Bu karşılaştırmayı etkin kılmak için literatürde 100 numune popülasyonunda belirtilen güven aralığı, 1 - numune oran testinin süreklilik düzeltmesiyle hesaplanarak bulunmuştur.

Tablo 5. EVI1 Breakapart Probe için Klinik Performans

Yeniden Düzenleme	Prevalans			
	Kaynak Gözden Geçirme (%)	%95 LCI (%)	Klinik Çalışma (%)	%95 UCL (%)
inv(3)/t(3;3)/MECOM yeniden düzenlemeleriyle AML	1,3	0,1	4	6,7
MECOM yeniden düzenlemeleriyle MDS	0,4	0		5,3

**Ek Bilgi**

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**

- Soderholm *et al.*, Leukemia 1997;11:352-358
- Bobadilla *et al.*, Br J Haematol 2007;136:806-813
- Swerdlow *et al.*, (eds.) WHO Classification of Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissue, Lyon, France, 4th edition, IARC,2017
- Pedersen-Bjerggaard *et al.*, Leukemia 2008;22:240-248
- 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: <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.



**CytoCell 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](mailto:probes@cytozell.com)  
Web sitesi: [www.ogt.com](http://www.ogt.com)