



A Sysmex Group Company



Kullanım Talimatları

REF: LPH 007-S / LPH 007

BCR/ABL (ABL1) Translocation, Dual Fusion Probe



YALNIZCA PROFESYONEL KULLANIM İÇİNDİR



www.cytoCELL.com

Daha fazla bilgi ve diğer diller şurada mevcuttur: www.ogt.com

Sınırlamalar

Bu cihaz, BCR ve ABL1 bölgelerini içeren bu prob setindeki kırmızı ve yeşil klonlarla kaplanmış bölgedeki kırılma noktalarının yeniden düzenlemelerini tespit etmek için tasarlanmıştır. Bu bölgenin dışındaki ayrılma noktaları ya da tümüyle bu bölgeler dahilinde olan varyant yeniden düzenlemeleri, bu ürün olmadan 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 BCR/ABL (ABL1) Translocation, Dual Fusion Probe, doğrulanmış veya şüpheli kronik miyeloid lösemi (KML), akut miyeloid lösemi (AML) veya akut lenfoblastik lösemili (ALL) hastalardan alınan hematolojik olarak türetilmiş hücre süspansiyonları sabitlenmiş Carnoy çözeltisinde (3:1 metanol / asetik asit) 22 no'lu kromozomdaki q11.2 bölgesi ve 9 no'lu kromozomundaki q34.1 bölgesi arasında kromozomal yeniden düzenlemeleri tespit etmek için yerinde hibridizasyon (FISH) testinde kullanılan kalitatif, otomatik olmayan bir floresandır.

Endikasyonlar

Bu ürün, tanısal ve klinik bakım yollarında, BCR-ABL translokasyon durumu bilgisinin klinik yönetim için önemli olacağı, diğer klinik ve histopatolojik testlere ek olarak tasarlanmıştır.

Test Prensipleri

Floresan *in situ* 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 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. Melezlemeyi takiben, bağımsız ve belirsiz bağlı DNA probu kaldırılır ve DNA vizüalizasyon için karşı boyayla boyanır. Floresan mikroskop böylece hedef materyal üzerindeki melezlenmiş probun görüntülenmesini yapabilir.

Prob Bilgisi

BCR (*RhoGEF* ve *GTPase* BCR aktivatörü) 22q11.23'te bulunur ve ABL1 (*ABL proto-onkojen 1, reseptör olmayan tirozin kinaz*) geni 9q34.12'de bulunur. Bu iki gen arasında translokasyon, BCR-ABL1 füzyon genine yol açar ve bir Philadelphia kromozomu üretir; bu translokasyonun görünür bir sonucudur.

Bir BCR-ABL1 füzyonunun olması, çeşitli hematolojik hastalıklarda önemli teşhis ve prognostik etkilere sahiptir.

T(9; 22)(q34.12;q11.23) translokasyonu, kronik miyeloid lösemisinin (KML) ayırt edici özelliğidir ve vakaların yaklaşık %90-95'inde bulunur¹. Kalan vakalar değişken bir translokasyona sahiptir veya rutin sitogenetik analize tanımlanamayan 9q34 ve 22q11.23'ü içeren şifreli bir yeniden düzenlemeye sahiptir¹.

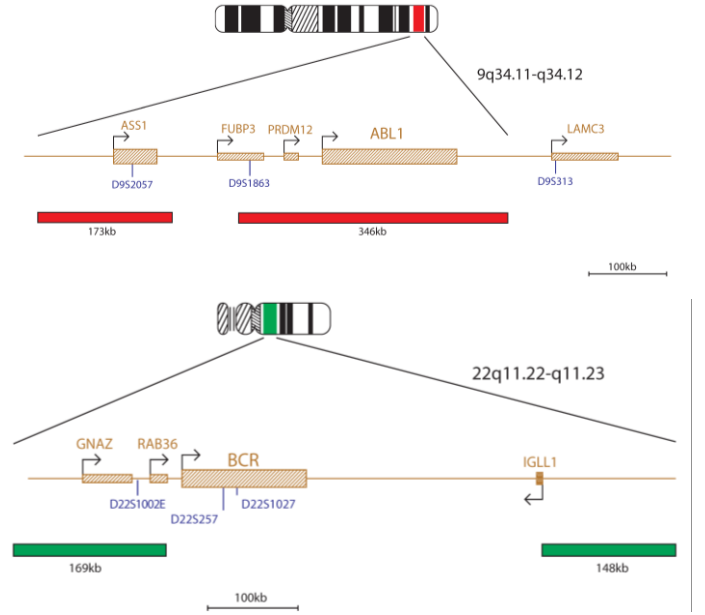
BCR-ABL1 füzyonu, yetişkin akut lenfoblastik lösemisinin (ALL) %25'inde ve çocukluk çağı ALL'in %2-4'ünde bulunabilir. Bir BCR-ABL1 füzyonunun olması hem yetişkinlerde hem de çocuklardaki ALL'de kötü bir prognoz sağladığı gösterilmiştir^{1,2}. Bu nedenle anormallik tespiti, tedavi ve yönetim kararlarını etkileyebilecek olan risk sınıflandırma için büyük önem taşımaktadır². Az sayıda ALL vakalarında translokasyon sitogenetik olarak görünür bir Philadelphia kromozomu ile sonuçlanmaz. Bu durumlarda FISH, füzyon genini vurgulamak için esastır³.

Bu yeniden düzenleme nadir görülen akut miyeloid lösemi (AML) vakalarında da görülür. Philadelphia-pozitif AML, konvansiyonel standart kemoterapiye direnci ve kötü prognoz⁴ ile karakterizedir, bu nedenle bu kromozomal anomalinin doğu ve hızlı bir şekilde tanımlanması hayati önem taşır.

Prob Spesifikasyonu

ABL1, 9q34.11-q34.12, Kırmızı

BCR, 22q11.22-q11.23, Yeşil



BCR prob karışımı, BCR/ABL1 genine santromerik bir 169kb yeşil prob içerir ve GNAZ ve RAB36 genlerini kapsar. İkinci bir yeşil prob, IGLL1 geninin telomerik ucunu ve ötesindeki yan bölgeyi içeren bir 148kb bölgesini kapsar. Kırmızı bir prob, ABL1 genini içeren 346kb'lik bir bölgeyi kapsar. 173kb'lik bir bölgeyi kapsayan ve tüm ASS1 genini kapsayan ek bir kırmızı prob vardır.

Tedarik Edilen Materyaller

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

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

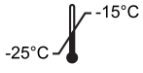
Karşıt Boya: Viyal başına 150µl (15 test)

Karşıt boya, DAPI renk solması karşıtı karışımdır (ES: 0.125µg/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 solmayın 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 aşamasında 10µl prob kullanılmaması, performansı etkileyebilir ve yanlış pozitif/negatif sonuçlara neden olabilir.

Muhafaza ve Kullanım



Kiti, 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 fotostabilir. 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 (0.5ml)
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 mikroskoplens immersiyon yağı
12. Tezgah üstü santrifüj
13. Mikroskop lamaları
14. 24x24 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 (SSS) 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, üçlü 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 kaçınınız. 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. Havayla kurutulmuş numuneleri mikroskop lamaları üzerinde standart sitogenetik prosedürlere uygun şekilde hazırlayın. AGT *Sitogenetik Laboratuvar Kılavuzu*, numune toplama, kültürlenme, hasat ve lam yapımı için öneriler içermektedir⁵.

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.

2xSSS Çözeltisi

1 birim 20xSSS 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.

0.4xSSS Çözeltisi

1 birim 20xSSS 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 20xSSS 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 karşıt 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 2xSSS 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 kurummasına 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 0.4xSSS (pH 7.0) içine daldırın.
15. Lamı kurutun ve 30 saniye boyunca, oda sıcaklığında (pH 7.0) 2xSSS, %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 kullanılarak izleyin (bakınız **Floresan Mikroskop Önerisi**).

Kullanılmış Lamaların Stabilitesi

Karanlıkta ve oda sıcaklığında ya da oda sıcaklığının altında bir ortamda muhafaza edildikleri takdirde FISH lamaları 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, 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, protokoldü kendi numunelerine göre optimize etmelidirler
8. Optimal altı koşullar, belirsiz bağlanmanın yanlış şekilde prob sinyali olarak yorumlanmasına neden olabilir

Sonuçların Yorumlanması

Lam Kalitesinin Değerlendirilmesi

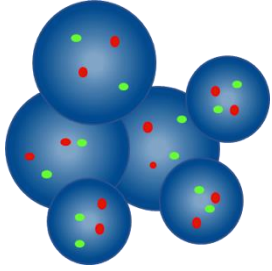
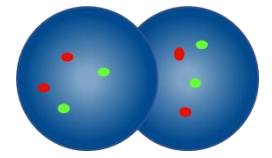
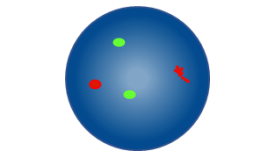
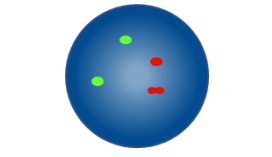
Aşağıdaki durumlarda lam analiz edilmemelidir:

- 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 kümelmiş/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

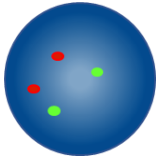
Analiz Kılavuzları

- 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 lamın sol tarafından, ikinci analist lamın 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 görülebilir. Eğer aynı rengin iki sinyal 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	
	Saymayın - 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 dağıntıdır
	İki kırmızı sinyal ve iki yeşil sinyal olarak sayın - bir kırmızı sinyaldeki boşluk iki sinyal genişliğinden azdır

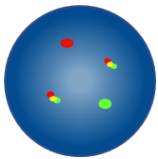
Beklenen Sonuçlar

Beklenen Normal Sinyal Örüntüsü



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

Beklenen Anormal Sinyal Örüntüleri



T (9; 22) (q34.1; q11.2) translokasyonu olan bir hücrede, beklenen sinyal modeli bir kırmızı, bir yeşil ve iki füzyon (1K, 1Y, 2F) olacaktır.

Anöploid/dengesiz numunelerde diğer sinyal örüntüleri mümkündür.

Bilinen Çapraz Reaktivite

Yeşil BCR distal probu, B, C veya E grubu kromozomlarında 2'ye kadar çapraz hibridizasyon sinyali 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 ağırlaştıracak 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 burada bulabilirsiniz <http://ec.europa.eu/growth/sectors/medical-devices/contacts/>.

Spesifik Performans Özellikleri

Analitik Spesifite

Analitik spesifite, yalnızca doğru lokusa hibritleşen sinyallerin yüzdesidir. Analitik spesifite, toplam 200 hedef lokusun analiziyle tespit edildi. Analitik spesifite, doğru lokusa hibridize olan FISH sinyalleri sayısının, toplam hibridize FISH sinyallerine bölünmesiyle hesaplandı.

Tablo 1. BCR/ABL Translocation, Dual Fusion Probe için Analitik Spesifite

Prob	Hedef Lokus	Doğru Lokusa Hibridize Olan Sinyallerin Sayısı	Hibridize Sinyallerin Toplam Sayısı	Spesifite (%)
Kırmızı ABL1	9q34	200	200	100
Yeşil BCR	22q11	200	200	100

Analitik Sensitivite

Analitik sensitivite, beklenen normal sinyal örüntüsü olan, skorlanabilir arafaz hücrelerinin yüzdesidir. Analitik sensitivite, farklı normal numuneler üzerinden arafaz hücreler analiz edilerek belirlenmiştir. Sensitivite, beklenen sinyal örüntüsüne sahip, skorlanabilir hücrelerin yüzdesi olarak hesaplanmıştır (%95 güven aralığı).

Tablo 2. BCR / ABL Translocation, Dual Fusion Probe için Analitik Sensitivite

Beklenen Sinyal Örüntülü Hücrelerin Sayısı	Skorlanabilir Sinyalli Hücrelerin Sayısı	Sensitivite (%)	%95 Güven Aralığı
481	500	96,2	1,4

Normal Kesim Değerleri Karakterizasyonu

FISH problemleriyle birlikte normal kesim değeri, bir numunenin bu sinyal örüntüsünün normal kabul edileceği spesifik anormal sinyal örüntülü, skorlanabilir arafaz hücresi maksimum yüzdesidir.

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

Tablo 3. BCR/ABL Translocation, Dual Fusion Probe için Normal Kesim Değerlerinin Karakterizasyonu

Anormal sinyal örüntüsü	Youden İndeksi	Normal Kesim (%)
1K, 1Y, 2F	0,99	1

Laboratuvarlar kesim değerlerini kendi verilerini kullanarak teyit ederler^{6,7}.

Kesinlik ve Yeniden Üretilebilirlik

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 tekrardan bir gün içinde analiz edilmesiyle değerlendirildi. Her bir numune için, 100 arafaz hücrenin sinyal örüntüleri kaydedildi. Beklenen sinyal örüntülü hücrelerin yüzdesi de hesaplandı.

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

Tablo 4. BCR/ABL Translocation, Dual Fusion Probe için Yeniden Üretilebilirlik ve Kesinlik

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

Klinik Performans

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

Klinik verilerin sonuçları, sensitivite, spesifite ve kesim değerleri üretmek için tek boyutlu bir yaklaşım kullanılarak analiz edildi.

Tablo 5. BCR/ABL Translocation, Dual Fusion Probe için Klinik Performans

Değişken	Sonuç
Klinik Sensitivite (gerçek pozitif oran, TPR)	%99,9
Klinik Sensitivite (gerçek negatif oran, TPR)	%100
Yanlış Pozitif oran (FPR) = 1 – Spesifite	%0

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. Swerdlow *et al.*, editors, WHO Classification of Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissues, Lyon, France, IARC:2008
2. Harrison *et al.*, *BJH* 2010;151:132-142
3. Van Rhee *et al.*, *Br J Haematol* 1995;90:225-8
4. Soupir *et al.*, *Am J Clin Pathol* 2007;127:642-650
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> testleri için yeterlidir
CONT	tr: İçindekiler

Patentler ve Markalar

CytoCell, CytoCell Ltd.'nin tescilli ticari markasıdır.



CytoCell Ltd.

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