



A Sysmex Group Company



Kullanım Talimatları

REF: LPH 022-S / LPH 022

CBFβ (CBFB)/MYH11 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, *CBFβ* ve *MYH11* bölgelerini içeren bu prob setindeki kırmızı ve yeşil klonlarla bağlanmış 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 bulundurulmalıdır. 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 CBFβ/MYH11 Translocation, Dual Fusion Probe, doğrulanmış veya şüpheli akut myeloid lösemili (AML) hastalardan alınan hematolojik olarak üretilmiş hücre süspansiyonları sabitlenmiş Carnoy çözeltisindeki (3:1 metanol/asetik asit) kromozom 16 üzerindeki 16p13.1 ve kromozom 16 üzerindeki 16q22 bölgesi arasında kromozomal yeniden düzenlemeleri tespit etmek amacıyla yerinde hibridizasyon (FISH) testinde kullanılan kalitatif, otomatik olmayan bir floresandır.

Endikasyonlar

Bu ürün, tanısal ve klinik bakım yollarında, *CBFβ-MYH11* translokasyon durumu bilgisinin klinik yönetim için önemli olacağı, diğer klinik ve histopatolojik testlerle birlikte tasarlanmıştır.

Test prensipleri

Floresan *in situ* hibridizasyonu (FISH), DNA dizilimlerinin metafaz kromozomlar üzerinde ya da sabit sitogenetik numunelerden alınan ara faz çekirdeklerde tespit edilmesine yardımcı olan bir tekniktir. Bu teknik, tüm kromozomları ya da teki özgün dizimleri 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 denatürasyon ardından, Hedef DNA komplementer bir dizilime sahip, benzer bir denatüre, floresan etiketli DNA probuna tavlama hazırlanır. Melezlemeyi takiben, bağımsız ve belirsiz bağlı DNA probu kaldırılır ve DNA vizüalizasyonu için karşı boyayla boyanır. Floresan mikroskop böylece hedef materyal üzerindeki melezlenmiş probun görüntülenmesini yapabilir.

Prob Bilgisi

CBFβ (*çekirdeğe bağlı faktör alt ünite beta*) geni, 16q22.1'de ve MYH11 (*miyosin ağır zinciri 11*) geni 16p13.11'de bulunur. inv(16)(p13.1;q22.1) ters dönüşümü ve t(16;16)(p13.11;q22.1) translokasyonu CBFβ-MYH11 füzyon genini yükseltir

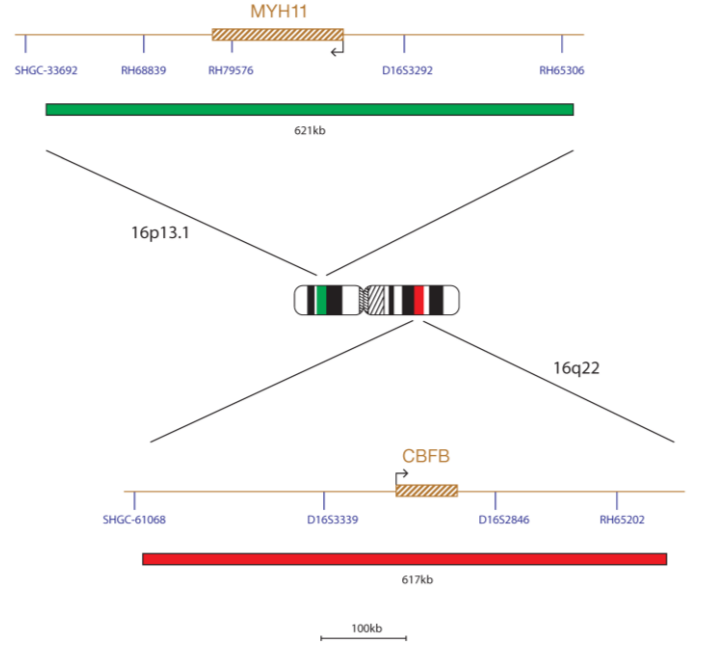
Dünya Sağlık Örgütü (WHO) miyeloid neoplazma ve akut lösemi sınıflandırmasına göre inv(16)(p13.1;q22.1) veya t(16;16)(p13.11;q22.1) içeren akut miyeloid lösemiler, kabul edilen bir hastalık varlığı oluşturur. Bu yeniden düzenlemeler, artmış kemik iliği eozinofilleri, AML FAB (Fransız-Amerikan-İngiliz sınıflandırması) M4Eo tipli miyelomonositik alt tipi olan hastalarda sık sık görülür ve tüm AML'lerin %5-8'inde bulunur¹. Terapi ilişkili AML vakalarında da bu yeniden düzenleme olabilir^{1,2}.

CBFB-MYH11 yeniden düzenlemeleri AML'li hastalarda faydalı sitogenetik risk grubu olarak sınıflandırılır^{3,4}.

Kesme noktaları, CBFB'nin intron 5'i ve MYH11'in intron 5'te meydana gelir. CBFB'nin N terminali, multimerizasyon alanıyla birlikte MYH11'in C terminaline bağlanır. Elde edilen kimerik protein, aktif CBF miktarını azaltır. Çekirdekte CBFB-MYH11/CBFA multimerlerinin birikimi de meydana gelir. CBFB, bazı ADP-ribosilasyon faktörlerinin (ARF'ler) ve diğer tümör baskılayıcı genlerin (TBG'ler) ekspresyonunu düzenler ve bu nedenle füzyon proteininin TBG ekspresyonunu baskıladığı düşünülmektedir⁵.

Prob Spesifikasyonu

CBFβ, 16q22.1, Kırmızı
MYH11, 16p13.11, Yeşil



Kırmızı etiketli CBFβ probu, 16q22.1 dahilinde 617kb'lik bir bölgeyi kapsar ve CBFβ genini içerir. Yeşil etiketli MYH11 probu, 16p13.11 içindeki 621kb'lik bir bölgeyi kapsar ve MYH11 genini içerir.

Tedarik Edilen Materyaller

Prob: Viyal başına 50µl (5 test) ya da 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 karışım (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 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 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

DS060/CE-tr v010.00/2020-12-01 (H077 v5)

Sayfa 1 / 4

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 ışığa maruz bırakılmasının ardından 48 saate kadar fotostabildir. Işığa 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 tüpleri (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 kavanozları
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. Artılmış su

Floresan Mikroskop Önerisi

Optimal vizüalizasyon için, 100 vat cıva buharlı lamba ya da muadili bir lamba ve yağ immersiyonu planı apokromat objektifleri (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) fiksatifli içinde 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, kültürleme, hasat ve lam yapımı için öneriler içermektedir⁵.

Çözelti Hazırlama

Etanol Çözeltileri

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

- %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 hava geçirmeyen bir kaptaki, 6 ay boyunca, oda sıcaklığında muhafaza edin.

2xSSS Çözeltisi

1 birim 20xSSS 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 kaptaki, 4 haftaya kadar muhafaza edin.

0.4xSSS Çözeltisi

1 birim 20xSSS 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 kaptaki, 4 haftaya kadar muhafaza edin.

2xSSS, %0.05 Tween-20 Çözeltisi

1 birim 20xSSS Çözeltiyi 9 birim artılmış 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: Proben 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 içinde yapılmalıdır. Optimal hücre numunesi damlatma için, kabini 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.

Mezlezleştirme

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

Mezlezleme 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 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 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, mezlezleştirme koşullarını olumsuz etkileyebilir
3. Bu sıcaklık 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 mezlezleştirme 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

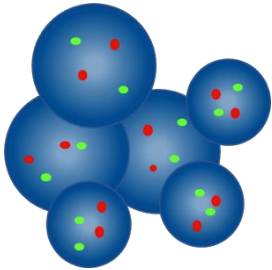
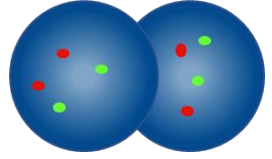
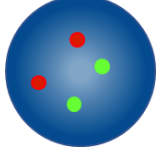
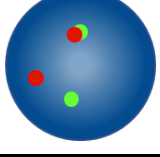
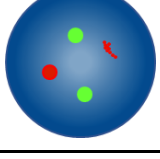
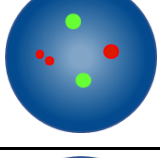
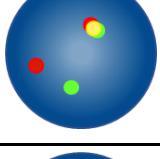
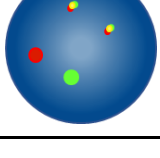
Lam Kalitesinin Değerlendirilmesi

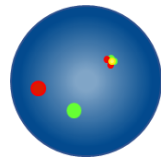
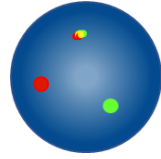
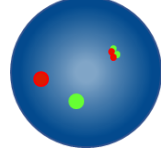
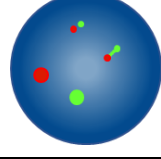
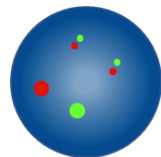
Aşağıdaki durumlarda lam analiz edilmemelidir:

- 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 kümelenmiş/üst üste binmiş hücre varsa
- Hücrelerin >%50'si mezlezleştirilmemişse
- Hücreler arasında fazla floresan partikül ve/ya da 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

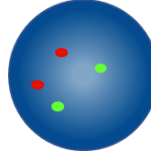
- Her numune için iki analist analiz etmeli ve yorumlamalıdır. Herhangi bir tutarsızlık üçüncü bir analist tarafından değerlendirilerek çözümlenmelidir
- Analistlerin hepsi geçerli ulusal standartların öngördüğü vasıflara sahip olmalıdır
- Her analist, her numune için bağımsız olarak 100 çekirdek almalıdır. 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 görünebilir. 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 sinyali tek olarak kabul edilir
- Hücrenin 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 |
|  | Beklenen normal sinyal modeli (2K, 2Y) |
|  | Normal sinyal modeli (2K, 2Y) - iki kırmızı ve iki yeşil sinyal birlikte yerleştirilir |
|  | Normal sinyal modeli (2K, 2Y) - iki kırmızı sinyalden biri dağıtılır |
|  | Normal sinyal modeli (2K, 2Y) - bir kırmızı sinyaldeki boşluk iki sinyal genişliğinden düşüktür |
|  | Normal sinyal modeli (2K, 2Y) - iki kırmızı ve iki yeşil sinyal birlikte yerleştirilir |
|  | Beklenen anormal sinyal modeli (1K, 1Y, 2F) - kırmızı ve yeşil füzyon sinyalleri nispeten küçüktür |

| | |
|--|--|
|  | Beklenen anormal sinyal modeli (1K, 1Y, 2F) - birlikte yerleştirilen sinyaller |
|  | Beklenen anormal sinyal modeli (1K, 1Y, 2F) - birlikte yerleştirilen sinyaller |
|  | Beklenen anormal sinyal modeli (1K, 1Y, 2F) - yan yana iki füzyon sinyali |
|  | Bir kırmızı, bir yeşil ve iki füzyon sinyali olarak sayılır - bir füzyon sinyali dağıtılır |
|  | Bir kırmızı, bir yeşil ve iki füzyon sinyali olarak sayılır - füzyonlardaki kırmızı ve yeşil sinyaller arasındaki boşluk iki sinyal genişliğinden düşüktür ve füzyon kırmızı ve yeşil sinyalleri nispeten küçüktür |

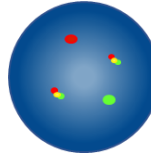
Beklenen Sonuçlar

Beklenen Normal Sinyal Örüntüsü



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

Beklenen Anormal Sinyal Örüntüleri



Inv (16) veya t(16;16)(p13;q22) olan bir hücrede, beklenen sinyal modeli bir kırmızı, bir yeşil ve iki füzyon (1K, 1Y, 2F) olur.

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 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. CBF8/MYH11 Translocation, Dual Fusion Probe için Analitik Belirlilik

| Prob | Hedef Lokus | Doğru Lokusa Hibridize Olan Sinyallerin Sayısı | Hibridize Sinyallerin Toplam Sayısı | Spesifite (%) |
|--------------|-------------|--|-------------------------------------|---------------|
| Kırmızı CBFβ | 16q22 | 200 | 200 | 100 |
| Yeşil MYH11 | 16p13 | 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. CBFβ/MYH11 Translocation, Dual Fusion Probe için Analitik Hassasiyet

| Beklenen Sinyal Örüntüsü Hücrelerin Sayısı | Skorlanabilir Sinyalli Hücrelerin Sayısı | Sensitivite (%) | %95 Güven Aralığı |
|--|--|-----------------|-------------------|
| 4947 | 5000 | 98,94 | 98.62 – 99.19 |

Normal Kesim Değerleri Karakterizasyonu

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

Proben tespit etmesi amaçlanan yeniden düzenlemenin negatif numuneler ve beta ters işlevi kullanılarak normal kesme değeri belirlenmiştir. Her bir numune için 100 faz arası çekirdeğin sinyal modelleri, toplamda her bir numune için 200 olarak iki bağımsız analist tarafından kaydedilmiştir.

Tablo 3. CBFβ/MYH11 Translocation, Dual Fusion Probe için Normal Kesme Değerlerinin Karakterizasyonu

| Anormal sinyal örüntüsü | Kesim yapmak için analiz edilen numune sayısı | Her bir numune için değerlendirilen çekirdek sayısı | Maks. yanlış pozitif sinyal modeli sayısı | Normal kesim valfi (%) |
|-------------------------|---|---|---|------------------------|
| 1K, 1Y, 2F | 1300 | 200 | 1 | 2,3 |

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

Kesinlik ve Yeniden Üretilebilirlik

Yeniden üretilebilirlik, altı kör numune (yeniden düzenleme için iki negatif, kesimin 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 beş gün boyunca her bir numunenin iki kopyası kullanılarak gerçekleştirildi.

Her üç bölge de aynı prob lotu kullanılarak gün içi, günler arası ve bölgeler arası testlerden geçirildi. Ayrıca bölgelerden birinde üç farklı prob kullanılarak lotlar arası yeniden üretilebilirlik de gerçekleştirildi.

Tekrarlanabilirlik, her test sırasında incelenen değişkenler arasındaki uzlaşma kullanılarak hesaplandı.

Tablo 4. CBFβ/MYH11 Translocation, Dual Fusion Probe için Yeniden Üretilebilirlik ve Kesinlik

| Yeniden üretilebilirlik çalışması | Örnek | Anlaşma (%) |
|---|----------------|-------------|
| Gün içi / günler arası / bölgeler arası | Negatif | 100 |
| | Yüksek Pozitif | 100 |
| Lotlar Arası | Negatif | 100 |
| | Yüksek Pozitif | 100 |

Klinik Performans

Klinik performans, AML veya MDS için iki farklı bölgeye başvurulup seçilmemiş hasta temsil grubu kullanılarak belirlendi (birinci bölgeden 100, ikincisinden 266 adet alındı). Prob tarafından tespit edilen yeniden düzenlemelerin vaka oranları, literatür kaynaklarının gözden geçirilmesinden alınan vakalarla karşılaştırıldı.

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

Tablo 5. CBFβ/MYH11 Translocation, Dual Fusion Probe için Klinik Performans

| Yeniden Düzenleme | Prevalans | | | | |
|-------------------|--------------------------|-------------|-------------|-------------|-------------|
| | Kanyak Gözde Geçirme (%) | %95 LCI (%) | Bölge 1 (%) | Bölge 2 (%) | %95 UCL (%) |
| | | | | | |

| | | | | | |
|--|-----|-----|---|------|------|
| Inv(16)/CBFB-MYH11 yeniden düzenlemeli AML | 5,3 | 2,0 | 2 | 2,63 | 12,2 |
|--|-----|-----|---|------|------|

Ek Bilgiler

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

Tel: +44 (0)1223 294048

E-posta: techsupport@cytocell.com

Web sitesi: www.ogt.com

Referanslar

1. Swerdlow *et al.*, (eds.) WHO Classification of Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissue, Lyon, France, 4th edition, IARC, 2017
2. Hernández *et al.*, Haematologica 2000;85(5):481-5.
3. Moreno-Miralles *et al.*, J Biol Chem 2005;280(48):40097-103
4. Grimwade *et al.*, Blood 2010;116(3):354-365
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@cytocell.com
Web sitesi: www.ogt.com