



A Sysmex Group Company



Kullanım Talimatları

REF: LPH 032-S / LPH 032

FIP1L1/CHIC2/PDGFR A Deletion/Fusion Probe



YALNIZCA PROFESYONEL KULLANIM İÇİNDİR



www.cytozell.com

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

Sınırlamalar

Bu cihaz, *CHIC2* bölgesini içeren, bu prob setinde kırmızı klonun kapladığı bölgedeki silmeleri tespit etmek için tasarlanmıştır. Bu bölge dışındaki kırılma noktaları, tümüyle bu bölge dahilinde olan varyant yeniden düzenlemeleri ya da bu bölgedeki kısmi kayıplar 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 vasiyatlara sahip personel tarafından yorumlanmalıdır.

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

FISH sonuçlarının raporlanması ve yorumlanması, profesyonel uygulama standartlarıyla tutarlı olmalıdır ve diğer klinik vatanlama bilgilerinin de göz önünde bulundurulmalıdır. Bu set, tanılama amaçlı diğer laboratuvar testlerine yardımcı olması için kullanılmaktadır. 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 FIP1L1/CHIC2/PDGFR A Deletion/Fusion Probe, doğrulanmış veya şüpheli miyeloproliferatif neoplazmalı (MPN) hastalardan alınan hematolojik olarak türetilmiş hücre süspansiyonları sabitlenmiş Carnoy çözeltisinde (3:1 metanol/asetik asit) bulunan kromozom 4 üzerindeki 4q12 bölgesindeki kromozomal yeniden düzenlemeleri tespit etmek için *yerinde* hibridizasyon (FISH) testinde kullanılan kalitatif, otomatik olmayan bir floresandır.

Endikasyonlar

Bu ürün, tanısal ve klinik bakım yollarında, *FIP1L1-CHIC2-PDGFR A* yeniden düzenleme 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 ara faz 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 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 tavlanamaya 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

CHIC2'nin (*sistein bakımından zengin hidrofobik alan 2*) 4q12'de silinmesi, FIP1L1'in (*PAPOLA ve CPSF1 ile etkileşimi*) TTBF AA (*trombosit türevli büyüme faktörü alıcı alfa*) ile 4q12'de füzyonu ile sonuçlanan 4q12 hematopoetik hücreleri dönüştüren bir tirozin kinaz üretmektedir¹.

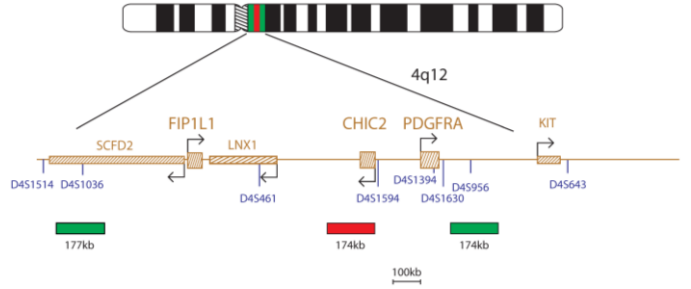
Dünya Sağlık Örgütü (WHO) 2008 yılı miyeloid neoplazma ve akut lösemi sınıflandırmasına göre yeni bir miyeloid neoplazma alt grubu olduğu belirtilmiştir. *PDGFR A*, *PDGFR B* veya *FGFR1 Eozinofil ve Anormalliklerine sahip Myeloid ve Lenfoid Neoplazmalar*. Bu neoplazmalar, bazı özellikleri ortak olan belirli üç hastalık grubunu içerir¹.

TTBF AA yeniden düzenlemelerini gösteren en yaygın miyeloproliferatif neoplazmalar (MPN), FIP1L1-PDGFR A füzyonlarına sahip olanlardır. Bu MPN'ler kronik eozinofilik lösemi (KEL) veya daha nadir olarak akut miyeloid lösemi (AML) olarak bulunur. Bu anormallik sitogenetik olarak kriptik olduğu için FISH, füzyonun tespiti için yararlı bir araç sağlar^{1,2}.

Füzyonlu hastalar, tirozin kinaz inhibitörleri (TKİ'ler) ile tedaviden fayda görürler. Füzyon geninin teşhisi bu nedenle hasta için terapötik seçeneklere yol açabilir^{1,2}.

Prob Spesifikasyonu

FIP1L1, 4q12, Yeşil
CHIC2, 4q12, Kırmızı
PDGFR A, 4q12, Yeşil



FIP1L1/CHIC2/PDGFR A ürünü, D4S1036 işaretçisi, FIP1L1 genine santromerik olarak yerleştirilmiş, yeşil renkte etiketlenmiş 177kb prob, CHIC2 genini kaplayan kırmızı etiketli 174kb prob ve D4S956 dahil TTBF AA genine telomerik yerleştirilmiş 174kb prob işaretleyiciden oluşur.

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))'dür.

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'nin kanserojen potansiyeli vardır. Kullanırken özen gösterin; eldiven ve laboratuvar önlüğü giyin.
5. Tüm tehlikeli malzemeleri, kurumunuzun tehlikeli atık boşaltımı kılavuzuna göre boşaltın.
6. Operatörler, kırmızı, mavi ve yeşil renkleri ayırt edebiliyor olmalıdır.
7. Belirtilen protokol ve reaksiyere 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 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 fotostabilir. 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. Isıtılmalı 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 mikroskobu
 7. Temiz plastik, seramik ya da ısıya dayanıklı cam Coplin kavanozlar
 8. Forsept
 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 Tercih 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:

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

Numune Hazırlama

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 içermektedir³.

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 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 tercih bağlıdır: lam üzerine damlatma sitogenetik kurutma kabiniyle 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) ısıtılmalı 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 ısıtılmalı 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.

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 mikroskopla görüntüleyin. (Bkz. **Floresan Mikroskop Önerisi**.)

Kullanılmış Lamaların Stabilitesi

Eğer karanlık ve oda sıcaklığında ya da oda sıcaklığının altında bir ortamda muhafaza edilirse, kullanılmış lamalar 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, mezlezleştirme 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 yokluğuyula 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, protokdü kendi numunelerine göre optimize etmelidirler
8. Optimal altı koşullar, belirsiz bağlanmanın yanlış şekilde prob sinyali olarak yorumlanmasına neden olabilir

Sonuçların Yorumlanması

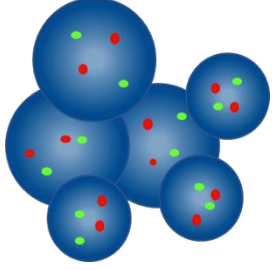
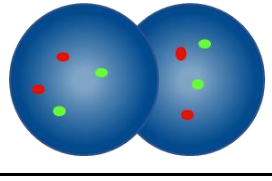
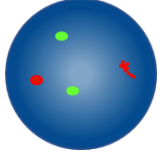
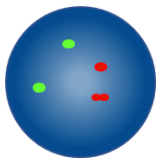
Lam Kalitesinin Değerlendirilmesi

Aşağıdaki durumlarda lam analiz edilmemelidir:

- Sinyaller, teklil 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

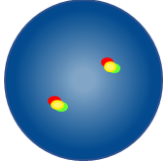
Analiz Kılavuzları

- Her 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, teklil 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 sinyal 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 |
|  | İki kırmızı sinyal ve iki yeşil sinyal olarak sayın - iki kırmızı sinyalden biri dağınıktır |
|  | İki kırmızı sinyal ve iki yeşil sinyal olarak sayın - bir kırmızı sinyaldeki boşluk iki sinyal genişliğinden azdır |

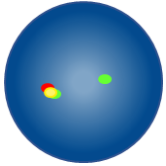
Beklenen Sonuçlar

Beklenen Normal Sinyal Örüntüsü



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

Beklenen Anormal Sinyal Örüntüleri



CHIC2 silmesi olan bir hücrede, beklenen sinyal modeli bir yeşil, bir kırmızı/yeşil füzyon sinyali olur (1Y, 1F).

Anöloid/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 hibritize olan FISH sinyalleri sayısının , toplam hibritize FISH sinyallerine bölünmesiyle hesaplandı.

Tablo 1. FIP1L1/CHIC2/PDGFR A Deletion/Fusion Probe için Analitik Belirlilik

| Prob | Hedef Lokus | Doğru Lokusa Hibritize Olan Sinyallerin Sayısı | Hibritize Sinyallerin Toplam Sayısı | Spesifite (%) |
|---------------|-------------|--|-------------------------------------|---------------|
| Yeşil FIP1L1 | 4q12 | 200 | 200 | 100 |
| Kırmızı CHIC2 | 4q12 | 200 | 200 | 100 |
| Yeşil PDGFRA | 4q12 | 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. Hassasiyet, beklenen sinyal modeline sahip, puanlanabilir hücrelerin yüzdesi darak hesaplanmıştır (%95 güven aralığıyla birlikte)

Tablo 2. FIP1L1/CHIC2/PDGFR A Deletion/Fusion Probe için Analitik Hassasiyet

| Beklenen Sinyal Örüntülü Hücrelerin Sayısı | Skorlanabilir Sinyalli Hücrelerin Sayısı | Sensitivite (%) | %95 Güven Aralığı |
|--|--|-----------------|-------------------|
| 492 | 500 | 98,4 | 1,3 |

Normal Kesim Değerleri Karakterizasyonu

FISH problemlarıyla birlikte normal kesim değeri, bir numunenin bu sinyal örüntüsünün normal kabul edileceği spesifik anormal sinyal modeli, 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 maksimize olduğu eşik değeri bulmak için hesaplandı.

Tablo 3. FIP1L1/CHIC2/PDGFR A Deletion/Fusion Probe Normal Kesim Değerleri Karakterizasyonu

| Anormal sinyal örüntüsü | Youden İndeksi | Normal Kesim (%) |
|-------------------------|----------------|------------------|
| 1Y, 1F | 1,00 | 5 |

Laboratuvarlar kesim değerlerini kendi verilerini kullanarak teyit etmelidirler^{4, 5}.

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 tekrarrın 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. FIP1L1/CHIC2/PDGFR A Deletion/Fusion Probe için Yeniden Üretilebilirlik ve Kesinlik

| Değişken | Standart Sapma (STDEV) |
|--------------------|------------------------|
| Kesinlik | 0,38 |
| Numuneden numuneye | 0,38 |
| Günden güne | 0,38 |
| Partiden partiye | 0,38 |
| Genel Sapma | 0,54 |

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. FIP1L1/CHIC2/PDGFR α Deletiyon/Fusion Probe için Klinik Performans

| Değişken | Sonuç |
|---|-------|
| Klinik Sensitivite (gerçek pozitif oran, TPR) | %100 |
| 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.*, (eds.) WHO Classification of Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissue, Lyon, France, 4th edition, IARC, 2017
2. Cools J *et al.*, N Eng J Med 2003;348:1201-14
3. Arsham, MS., Barch, MJ. and Lawce HJ. (eds.) (2017) *The AGT Cytogenetics Laboratory Manual*. New Jersey: John Wiley & Sons Inc.
4. 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.
5. 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, Cytozell Ltd.'nin tescilli ticari markasıdır.

**Cytozell 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