



A Sysmex Group Company



### Kullanım Talimatları

REF: LPH 026-S / LPH 026

## AML1/ETO (RUNX1/RUNX1T1) Translocation, Dual Fusion Probe



YALNIZCA PROFESYONEL KULLANIM İÇİNDİR



www.cytozell.com

Daha fazla bilgi ve diğer diller şurada mevcuttur: [www.ogt.com](http://www.ogt.com)

### Sınırlamalar

Bu cihaz, AML1 ve ETO (RUNX1 ve RUNX1T1) bölgelerini içeren, bu prob setindeki kırmızı ve yeşil klonlarla kaplı bölgedeki sınır değerler ile yeniden düzenlemeleri tespit etmek için tasarlanmıştır. Bu bölgenin dışındaki ayrıntı noktaları ya da tümüyle bu bölgeler dahilinde olan varyant yeniden düzenleme, 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 raporlanması ve yorumlanması, profesyonel uygulama standartlarıyla tutarlı olmalıdır ve diğer klinik ve tanılama bilgileri 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 AML1/ETO (RUNX1/RUNX1T1) Translocation, Dual Fusion Probe, doğrulanmış veya şüpheli akut myeloid lösemi (ALL) hastalarından alınan hematolojik olarak türetilmiş hücre süspansiyonları sabitlenmiş Carnoy çözeltisindeki (3:1 metanol/asetik asit) kromozom 21 üzerindeki 21q22.1 bölgesi ile kromozom 8 üzerindeki 8q21.3 bölgesi arasında kromozomal yeniden düzenlemeleri tespit etmek amacıyla yerinde hibridizasyon (FISH) testinde kullanılan kalitatif, otomatik olmayan bir floresandır.

### Endikasyonlar

Bu ürün, tanısız ve klinik bakım yollarında, AML1-ETO (RUNX1/RUNX1T1) 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 çekirdeklerde tespit edilmesine yardımcı olan bir tekniktir. Bu teknik, tüm kromozomları ya da teki özgün dizilimleri melezleştiren DNA problemleri kullanır ve G bantlı sitogenetik analiz için güçlü bir yardımcıdır. Bu teknik, prenatal, hematolojik ve solid tümör kromozomal analizlerde temel bir araştırma aracı olarak kullanılabilir. Fiksasyon ve denatürasyonun ardından, Hedef DNA komplementer bir dizilime sahip, benzer bir denatüre, floresan etiketli DNA probuna tavlama hazırlanmaya hazır hale gelir. Melezlemeyi takiben, bağımsız ve belirsiz bağı DNA probu kaldırılır ve DNA vizüalizasyon için karşı boyayla boyanır. Floresan mikroskop böylece hedef materyal üzerindeki melezleşmiş probu görüntülenmesini yapabilir.

### Prob Bilgisi

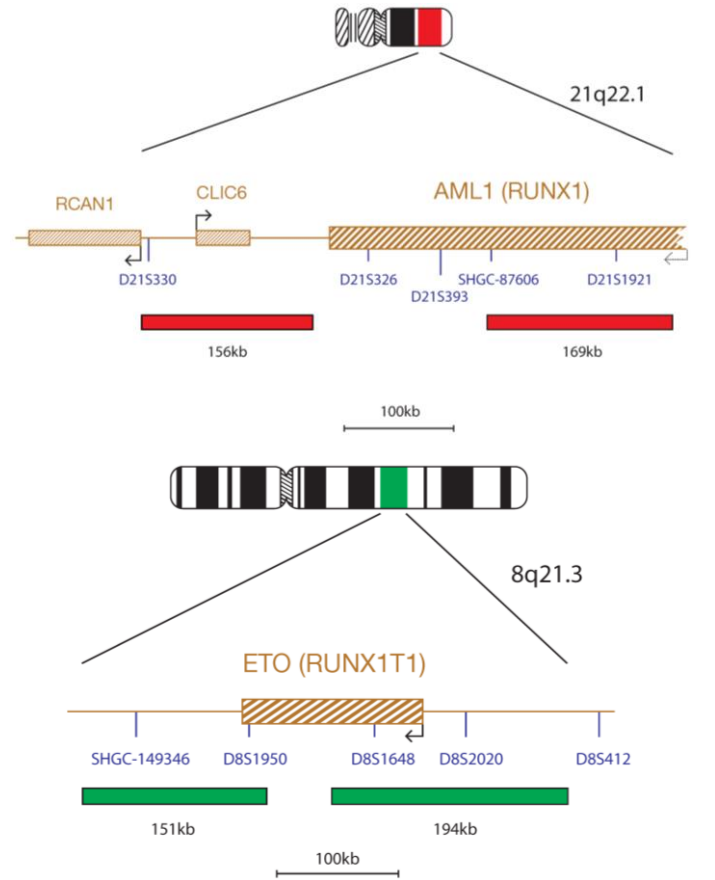
21q22.12'deki RUNX1 (RUNX1 aile transkripsiyon faktörü 1) geni, t(8;21)(q22;q22) translokasyonundaki Ensembl konumu 8q21.3 RUNX1T1 (RUNX1 ortak transkripsiyonel ortak-baskılayıcı 1) geniyile kaynaştırılmıştır. Bu, genellikle akut myeloid lösemili (AML) FAB (Fransız-Amerikan-İngilizce sınıflandırması) tip M2 hastalarda görülür.

Dünya Sağlık Örgütü (WHO) miyeloid neoplazma ve akut lösemi sınıflandırmasına göre t(8;21)(q22;q22) translokasyonunun bir sonucu olarak oluşan RUNX1-RUNX1T1 füzyonlu AML bir hastalık varlığı olarak kabul edilmiştir<sup>1</sup>. Translokasyon, AML FAB tip M2'si olan hastaların %10 ila %22'sinde ve AML vakalarının %5 ila %10'unda görülür; en sık çocuklarda ve genç erişkinlerde<sup>2</sup> görülür ve iyi bir prognostik göstergedir<sup>3,4,5</sup>. t(8;21) kırılma noktası esasen ekson 5 ile 6 arasında, RUNX1T1<sup>2</sup> transkripsiyon faktörü ile kaynaşık RUNX1'in DNA bağlayıcı alanını içeren transaktivasyon alanı ve füzyon proteini oluşturulmadan hemen önce intronunda gerçekleştirilir.

RUNX1-RUNX1T1 füzyonunu oluşturan karşılıklı t(8;21) translokasyonuna ek olarak, varyant translokasyonlar da bildirilmiştir. Bu değişken düzenlemeler kriptik olabilir ve G-bandı ile kolayca göz ardı edilebilir, ancak FISH bu tür yeniden düzenlemelerin varlığını gösterebilir<sup>2</sup>.

### Prob Spesifikasyonu

AML1, 21q22.12, Kırmızı  
ETO, 8q21.3, Yeşil



AML1 bileşeni, CLIC6 genini kapsayan AML1 (RUNX1) genine sentromerik olarak yerleştirilmiş ve kırmızı etiketli bir 156kb probundan ve AML1 (RUNX1) geninin SHGC-87606 ve D21S1921 işaretleyicileri de dahil olmak üzere 169kb probunu kapsayan bir merkezden oluşur. Yeşil renkle etiketli ETO (RUNX1T1) bileşeni, genin ve yan bölgesinin sentromerik kısmını kapsayan bir 151kb probdan ve genin ve yan bölgesinin telomerik bölümünü kapsayan bir 194kb probdan 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)

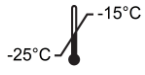
Karşıt boya, DAPI renk solması karşıtı karışımdır (ES: 0.125µg/ml DAPI (4,6-diamidino-2-fenilindol)).

### Uyarılar ve Tedbirler

1. Yalnızca *in vitro* tanılama amaçlıdır. Yalnızca profesyonel kullanım içindir.
2. DNA problemleri 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.

- Operatörler, kırmızı, mavi ve yeşil renkleri ayırt edebiliyor olmalıdır.
- Belirtilen protokol ve reaktiflere bağlı kalınmaması, performansı etkileyebilir ve yanlış pozitif/negatif sonuçlara neden olabilir.
- Bir prob diğer problemlerle seyreltilmemelidir ya da karıştırılmamalıdır.
- Protokolün ön denatürasyon aşaması sırasında 10µl prob kullanılmaması performansını 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 karşıtı 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 saat 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 kullanılmamalıdır:

- Isıtılmalı tabla (sert bir tabla ve 80°C'ye kadar doğru sıcaklık kontrolü)
- Kalibre edilmiş değişken hacimli mikropipet ve uç aralığı 1µl - 200µl
- Doğru sıcaklık kontrolünde (37°C ve 72°C) su banyosu
- Mikrosantrifüj tüpler (0.5ml)
- Floresan mikroskop (Lütfen Floresan Mikroskop Önerisi bölümüne bakınız)
- Faz kontrast mikroskobu
- Temiz plastik, seramik ya da ısıya dayanıklı cam Coplin kavanozlar
- Forseps
- Kalibre edilmiş pH ölçüm cihazı (ya da pH 6.5 – 8.0 ölçeklenen pH indikatör şeritler)
- Nemli kap
- Floresan dereceli mikroskop lensi immersiyon yağı
- Tezgah üstü santrifüj
- Mikroskop lamaları
- 24x24 lamel
- Zamanlayıcı
- 37°C inkübatör
- Kauçuk çözelti yapıştırıcısı
- Vorteks mikser
- Dereceli silindirler
- Manyetik karıştırıcı
- Kalibre edilmiş termometre

#### Tedarik Edilmeyen Tercih Bağlı Teçhizat

- Sitogenetik kurutma kabini

#### Gerekli Olan Fakat Tedarik Edilmeyen Reaktifler

- 20x salin-sodyum sitrat (SSS) Çözeltisi
- %100 Etanol
- Tween-20
- 1M Sodyum Hidroksit (NaOH)
- 1M Hidroklorik asit (HCl)
- Arıtılmış 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 <sub>maks</sub> [nm]	Emisyon <sub>maks</sub> [nm]
Yeşil	495	521
Kırmızı	596	615

Yukarıda listelenen ses dalgalarını kapsayan eksitasyon ve emisyon filtrelerinin mikroskoba uyduğundan 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 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) fiksatif içinde 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, kültürlenme, hasat ve lam yapımı için öneriler içermektedir<sup>6</sup>.

#### 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 geçirmez 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: Probu ve karşı boyanın laboratuvar ışıklarına maruz kalmamasına her zaman dikkat edin).

#### Lam Hazırlama

- Hücre numunesini cam mikroskop lam üzerine yerleştirin. Kurumaya izin verin.
- Lamı 2 dakika boyunca, oda sıcaklığında ve ajitasyon olmadan 2xSSS içine daldırın.
- Bir etanol serisinde (%70, %85 ve %100), 2 dakika boyunca, oda sıcaklığında dehidrasyon yapın.
- Kurumaya izin verin.

#### Ön Denatürasyon

- Probu dondurucudan çıkartın ve oda sıcaklığında (OS) ısınmasını sağlayın. Kullanmadan önce, tüpleri kısa süre santrifüj edin.
- Prob çözeltisinin bir pipetle karıştırıldığından ve çözeltinin eşit olarak dağıldığından emin olun.
- Test başına probtan 10µl alın ve bir mikrosantrifüj tüpüne aktarın. Kalan probu vakit kaybetmeden dondurucuya geri koyun.
- 5 dakikalık ön ısıtma için, probu ve numune lamını 37°C (+/- 1°C) ısıtılmalı tabla üzerine koyun.
- Prob karışımından 10µl alıp hücre numunesi üzerine damlatın ve dikkatlice bir lamel uygulayın. Kauçuk çözelti yapıştırıcısıyla kapatın ve yapıştırıcının tamamen kurummasına izin verin.

#### Denatürasyon

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

#### Mezleleştirme

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

#### Mezleme Sonrası Yıkamalar

- DAPI'yı dondurucudan çıkarın ve oda sıcaklığında (OS) ısınmasını sağlayın.
- Lameli ve yapıştırıcının tüm izlerini dikkatlice kaldırın.
- Lamı 2 dakika boyunca, 72°C'de (+/- 1°C) ve ajitasyon olmadan 0.4xSSS (pH 7.0) içine daldırın.
- Lamı kurutun ve 30 saniye boyunca, oda sıcaklığında (pH 7.0) 2xSSS, %0.05 Tween-20 içine daldırın.
- Lamı kurutun ve her bir numuneye 10µl DAPI renk solması önleyici karışımı uygulayın.
- Bir lamel ile üstünü kapatın, baloncukları giderin ve 10 dakika boyunca karanlıkta bekleterek rengin belirginleşmesini sağlayın.
- 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 lamalarla 1 ay kadar yeniden analiz yapılabilir.

#### Prosedürel Öneriler

- Lamların ısıtılması ya da yıpranması, sinyal floresanını düşürebilir
- Cytocell Ltd.'nin tedarik ettiği ya da önerdiği reaktifler haricinde reaktifler kullanmak, mezleleştirme koşullarını olumsuz etkileyebilir
- Bu sıcaklıklar optimum ürün performansı açısından kritik olduğu için, çözelti, su banyosu ve inkübatör sıcaklıklarını ölçmek için kalibre edilmiş bir termometre kullanın.
- Düşük sertlik probun belirsiz bağlanmasıyla ve çok yüksek sertlik sinyal yokluğuyla sonuçlanabileceği için, yıkama konsantrasyonlar, pH ve sıcaklıklar önemlidir
- Tamamlanmamış denatürasyon sinyali yokluğuna, aşırı denatürasyon ise belirsiz bağlanmaya neden olabilir
- Aşırı mezleleştirme ilave ya da beklenmeyen sinyallerin ortaya çıkmasıyla sonuçlanabilir
- Kullanıcılar, testi tanılama amaçlı olarak kullanmadan önce, protokoldü kendi numunelerine göre optimize etmelidirler
- Optimal altı koşullar, belirsiz bağlanmanın yanlış şekilde prob sinyali olarak yorumlanmasına neden olabilir

#### Sonuçların Yorumlanması

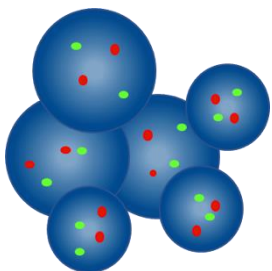
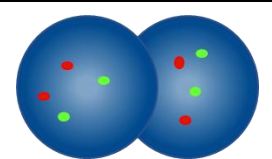
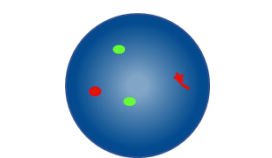
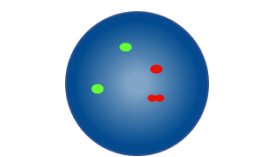
#### Lam Kalitesinin Değerlendirilmesi

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 melezleştirilmemiş
- 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

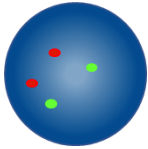
#### Analiz Kılavuzları

- 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, tekli filtreler kullanın ve/ya da odak düzlemini ayarlayın
- Optimal altı koşullarda difüze olarak görünebilir. Eğer aynı rengin iki sinyali birbirine değiyorsa ya da bu iki sinyalin arasındaki uzaklık iki sinyal genişliğinden daha büyük değilse veya bu iki sinyali birbirine bağlayan zayıf bir zincir varsa, bu iki sinyal tek olarak kabul edilir
- Hücresinin analiz edilebilir olup olmadığından emin değilseniz, analiz yapmayın

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

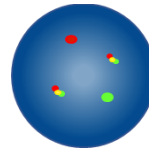
#### Beklenen Sonuçlar

##### Beklenen Normal Sinyal Örüntüsü



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

##### Beklenen Anormal Sinyal Örüntüleri



T (8; 21) (q21.3; q22.12) translokasyonu olan bir hücrede, beklenen sinyal modeli bir kırmızı, bir yeşil ve iki füzyon (1K, 1Y, 2F) olacaktır.

Anöploid/dengesiz numunelerde diğer sinyal modelleri 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 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. AML1/ETO Translocation/Dual Fusion Probe için Analitik Belirlilik

Prob	Hedef Lokus	Doğru Lokusa Hibridize Olan Sinyallerin Sayısı	Hibridize Sinyallerin Toplam Sayısı	Spesifite (%)
Kırmızı AML1	21q22	200	200	100
Yeşil ETO	8q21.3	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. AML1/ETO Translocation/Dual Fusion Probe için Analitik Hassasiyeti

Beklenen Sinyal Örüntülü Hücrelerin Sayısı	Skorlanabilir Sinyalli Hücrelerin Sayısı	Sensitivite (%)	%95 Güven Aralığı
4965	5000	99,30	99.03 – 99.50

##### Normal Kesim Değerleri Karakterizasyonu

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

Probenin tespit etmesi amaçlanan yeniden düzenlemenin negatif numuneler ve beta ters işlevi kullanılarak normal kesim 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. AML1/ETO Translocation/Dual Fusion Probe için Normal Kesim Değerleri 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	1290	200	1	2,3

Laboratuvarlar kesim değerlerini kendi verilerini kullanarak teyit ederler<sup>7,8</sup>.

##### Yeniden Üretilirlik

Yeniden üretilebilirlik, altı kör numune (yeriden düzenleme için iki negatif, kesimin 1 ila 3 katı 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. AML1/ETO Translocation/Dual Fusion Probe için Yeniden Üretilebilirlik

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 için iki farklı bölgeye başvurulup seçilmemiş hasta temsil grubu kullanılarak belirlendi (birinci bölgeden 100, ikincisinden 414 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 düzeltmesiyle hesaplanarak bulunmuştur.

Tablo 5. AML1/ETO Translocation/Dual Fusion Probe için Klinik Performans

Yeniden Düzenleme	Prevalans				
	Kanyak Gözde Geçirme (%)	%95 LCI (%)	Bölge 1 (%)	Bölge 2 (%)	%95 UCL (%)
t(8;21)/RUNX1-RUNX1T1 ile AML yeniden düzenleme	3,8	1,2	0	1,69	10,2

#### Ek Bilgiler

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

**Tel:** +44 (0)1223 294048

**E-posta:** techsupport@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. Reikvam H, *et al.*, J Biomed Biotechnol. 2011; 2011:104631
3. Grimwade *et al.*, Blood 2001;98(5):1312-1320
4. Harrison *et al.*, Journal of Clinical Oncology 2010;28(16):2674-2681
5. Grimwade *et al.*, Blood 2010;116(3):354-365
6. Arsham, MS., Barch, M.J. and Lawce H.J. (eds.) (2017) *The AGT Cytogenetics Laboratory Manual*. New Jersey: John Wiley & Sons Inc.
7. 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.
8. 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