

APO-Easy® genotipleme kiti

KULLANIM TALİMATI

REF FLS-OE-02

Yalnızca *in vitro* Tanı Amaçlı Kullanım içindir
Terapötik kullanım için değildir

Versiyon: 3.4

Veriliş tarihi: 21/05/2024

Dil: Türkçe

Version	Önemli Değişiklikler
3.1	Yayımlanan ilk sürüm
3.2	Yetkili distribütörler kısmı eklendi
3.3	Onaylanmış kuruluş değişikliği
3.4	Test aralık değerinin güncellenmesi ve QS5 Dx qPCR cihazı için yeni bir referans eklemesi



Firalis SA
35 rue du Fort
68330 – Huningue FRANSA

Telefon: +33 389 911 320
E-posta: contact@firalis.com
Web: www.firalis.com

İçindekiler:

1. Kullanım Amacı	5
2. Giriş	5
3. Analizin prensibi	6
4. Araçlar ve malzemeler	6
4.1. Kit ile birlikte verilen reaktifler ve malzemeler	7
4.2. İhtiyaç duyulan çeşitli malzeme ve ekipmanlar	8
4.3. Kit saklama gereksinimleri ve kitin raf ömrü	8
5. Genomik DNA (gDNA) ekstraksiyonu ve kantifikasyonu	8
5.1. Ekstraksiyon	8
5.2. Kantifikasyon	8
6. APO-Easy® Genotipleme analiz prosedürü	8
6.1. Adım 1. Gerçek zamanlı genotipleme PCR reaksiyonu hazırlama	9
6.2. Adım 2. qPCR uygulaması	10
6.3. Adım 3. Sonuç analizi	12
6.4. Adım 4. Yorumlama	14
7. Sorun Giderme	15
8. Analitik Parametreler	16
9. Klinik Performans	16
10. Kalan Riskler ve Uyarılar	17
11. Prosedürün Sınırlamaları	18
12. Kimyasal güvenlik yönergeleri	19
13. Teknik bilgiler	19
14. Sorumluluk	19
Teknik yardım	20
Ciddi olay raporu bildirimi	20
Güvenlik ve Performans Özeti	20
Referanslar	21
IFU'da ve kitin etiketlerinde kullanılan sembol açıklaması	22

Tablolar:

Tablo 1. APO-Easy® Genotipleme kitini gerçekleştirmek için gereken ekipman referansı	6
Tablo 2. Önerilen gDNA ekstraksiyon kitinin referansı (APO-Easy® Genotipleme kiti ile birlikte verilmez).....	7
Tablo 3. APO-Easy® Genotipleme kitinin içeriği.	7
Tablo 4. APO-Easy genotipleme analizi iş akışına genel bakış.	8
Tablo 5. APO-Easy® Genotipleme kiti için 24 numune, 3 kontrol/SNP ve 2 NTCs/SNP'nin APOE genotiplemesi için 96 kuyucuklu bir plakanın model düzeni.	10
Tablo 6. APO-Easy genotipleme analizinin SNP belirlemesi için standart yazışma.	10
Tablo 7. QS5 cihazında qPCR uygulama programı.....	12
Tablo 8. SNP rs429358 ve rs7412 sonuçlarından genotipin yorumlanması.	14
Tablo 9. APO-Easy genotipleme kiti sorun giderme önerileri.	15
Tablo 10 APO-Easy genotipleme analizi %100 doğruluğa sahiptir	16
Tablo 11 AD ve NAD + HC arasında genotip bazlı karşılaştırmalar	17

Şekiller:

Şekil 1. İnsan APOE geninin şematik diyagramı ve 3 alel ε2, ε3 ve ε4 ile sonuçlanan 2 tek nükleotiddeki polimorfizmler.	6
Şekil 2. QS5 yazılımındaki deney özelliklerinde deney tipi seçimi. Genotiplemeyi seçtiğinizden emin olun (kırmızı ok).....	11
Şekil 3. QS5 yazılımında APO-Easy genotipleme kiti için SNP kurulumu.	11
Şekil 4. QS5 yazılımındaki qPCR uygulama sonuçları sayfası. Kırmızı ok seçilecek sonuç türünü (Allelic Discrimination) ve yeşil ok SNP'lerin seçileceği simgeyi gösterir.	13
Şekil 5. QPCR analizinden sonra SNP rs429358 (Master mix 1) için standartların sinyal modeli.....	13
Şekil 6. qPCR analizinden sonra SNP rs7412 (Ana karışım 2) için standartların sinyallerinin modeli....	14
Şekil 7. Sonuçların QS5 yazılımı üzerinde yorumlanması. Kırmızı ok sinyali yorumlayan simgeyi, yeşil ok ise sonuç analizinden sonra yazılım tarafından belirlenen her bir SNP için hasta durumunu gösterir.	14

Kısaltmalar listesi:

SNP: tek nükleotid polimorfizmleri

gDNA: genomik deoksiribonükleik asit

APOE: Apolipoprotein E

AD: Alzheimer Hastalığı

qPCR: kalitatif gerçek zamanlı Polimeraz Zincir Reaksiyonu

IVD: In Vitro Tanı

QS5-Dx: QuantStudio 5 Dx Gerçek Zamanlı PCR Sistemi

NTC: Şablon Kontrolü Yok

MUT: Mutant

WT: Yabanıl Tip

Het: Heterozigot

RCF: Bağlı Merkezkaç Kuvveti

°C: Santigrat derece

Ng: nanogram

µL: mikrolitre

STD: standart

IFU: Kullanım Talimatı

SDS: Güvenlik Bilgi Formları

1. Kullanım Amacı

APO-Easy® genotipleme kiti insan genomik DNA'sında iki tek nükleotid polimorfizmi (SNP) rs429358 ve rs7412'nin saptanmasına yönelik kalitatif bir in vitro tanı testidir. RT-PCR'ye dayalı olarak altı Apolipoprotein E (APOE) genotipinin belirlenmesini sağlar: e2/e2, e2/e3, e3/e3, e2/e4, e3/e4 ve e4/e4.

APO-Easy® genotipleme test sonucunun doktorlar tarafından diğer klinik muayenelerle birlikte bir bireyin Alzheimer Hastalığı (AD) geliştirme risk düzeyini değerlendirmeye yardımcı olmak için kullanılması amaçlanmıştır. ε2 alellerine sahip bir birey, koruyucu etkisinin bir göstergesi olarak AD gelişimi için en düşük riski sergiler. ε3 alellerinin varlığı esas olarak normal bireylerde görülür ve AD gelişme riskini değiştirmez. Tek bir ε4 aleline (heterozigot e2/e4 veya e3/e4) sahip bir birey, e4 içermeyen diğer APOE genotiplerine (e2/e2, e2/e3 ve e3/e3) kıyasla yüksek bir AD gelişme riski ile ilişkilidir. Çift ε4 alellerinin (homozigot e4/e4) varlığı diğer tüm APOE genotiplerine kıyasla en yüksek AD gelişme riski ile ilişkilidir.

Kullanım Koşulları:

- Reçeteli kullanım için
- Yetişkin insanlarda kullanım için (> 18 yaş)
- Moleküler tanı laboratuvarlarında kalifiye operatörler tarafından kullanım için
- Bu test otomatik bir yöntem değildir
- Test hasta tarafından evde gerçekleştirilemez. Ne bir bakım noktası cihazı ne de kendi kendine uygulanan bir test cihazıdır
- Bu test klinik ve tanısal değerlendirmelerin yerine geçmesi amacıyla kullanılmaz.

2. Giriş

Apolipoprotein E (APOE) karaciğer, beyin, dalak, böbrekler, cinsiyet bezleri, adrenal bezler ve makrofajlar gibi çeşitli organlarda ifade edilen bir şilomikron apolipoproteinidir ([Marias, 2019](#)). APOE'nin lipoproteinler, yağda çözünen vitaminler ve glikoz/enerji metabolizmasının yanı sıra sinyal iletimi, metastaz ve anjiyogenez gibi çeşitli süreçler için önemli olduğu gösterilmiştir. Lipid metabolizmasında önemli olan APOE, trigliseritten zengin lipoprotein bileşenlerinin normal katabolizması için gerekli olduğundan kardiyovasküler hastalıklarla iyi bir şekilde bağlantılıdır ([Semaev ve ark., 2022](#)). APOE'nin frontotemporal demans, Parkinson hastalığı, Lewy cisimcikli demans ve Alzheimer hastalığı (AH) gibi nörodejeneratif bozuklukların patogeneziindeki önemi iyi bir şekilde belgelenmiştir ([Davis ve ark., 2020](#); [Mishra ve ark., 2017](#)).

APOE geninin üç ortak aleli (ε2, ε3 ve ε4) ve altı ilgili genotipi (ε3ε3, ε3ε2, ε2ε2, ε3ε4, ε4ε4 ve ε2ε4) vardır ([Su ve ark., 2017](#)). İlgili izoformlar 112 ve 158 pozisyonlarındaki amino asitlerle karakterize edilir ve lipoprotein reseptörlerine olan afinitiyi belirler. APOE ε3, AD gelişme riskini ne artırdığı ne de azalttığı düşünülen en yaygın aleldir. APOE ε2'nin AD gelişimine karşı koruyucu bir etkisi olduğu gösterilmiştir ([Ohm ve ark., 1999](#)), APOE ε4 ise beta-amiloidin (Aβ) temizlenmesini azaltarak AD fare modelinde nöronlarda Aβ birikiminin artmasına neden olmuştur ([Yamazaki ve ark., 2019](#)). İnsanların yaklaşık yüzde 25'i APOE ε4'ün bir kopyasını, yüzde 2 ila 3'ü ise iki kopyasını taşır (<https://www.nia.nih.gov/health/alzheimers-disease-genetics-fact-sheet>). [Mayeux ve ark., 1998](#) yılında 2188 AD hastasını incelemiş ve klinik kriterlerle birleştirildiğinde APOE ε4 genotipinin varlığının

AD tanısının özgülüğünü artırdığını göstermiştir. Birçok çalışma APOE ε4 genotipinin AH'nin bilinen ve sporadik formlarının geç başlangıcı ile ilişkili olduğunu kanıtlamıştır ([Corder ve ark., 1993](#), [Schmechel ve ark., 1993](#), [Strittmatter ve ark., 1993](#), [Farrer ve ark., 1997](#), [Bu G., 2009](#)).

APO-Easy® Genotipleme kiti, iki APOE tek nükleotid polimorfizm (SNP) mutasyonunun *in vitro* tespiti için kalitatif gerçek zamanlı polimeraz zincir reaksiyonu (qPCR) tekniğini kullanır: rs429358 ve rs7412. Bu IVD testi floresan işaretli probler (FAM ve VIC) kullanarak alel ayırma ve APOE genotiplerinin belirlenmesine olanak tanır.

3. Analizin prensibi

APO-Easy® Genotipleme kiti, APOE genotiplerini belirlemek için PAXgene DNA numunelerinden ekstrakte edilen genomik DNA'yı (gDNA) test etmek üzere qPCR analizi gerçekleştirmek için gereken reaktifleri içerir. Analiz APOE genindeki 2 SNP'yi (rs429358 ve rs7412) değerlendirir ve her SNP için pozitif kontrol içerir (yabanıl tip, mutant ve heterozigot). Genotip, analiz edilen her iki mutasyon için mutasyon durumuna göre belirlenir ve bu da mümkün olan altı genotipten (ε3ε3, ε3ε2, ε2ε2, ε3ε4, ε4ε4 ve ε2ε4) biriyle sonuçlanır.

Yabanıl tip alel (ApoE3) için 112. pozisyonda sistein ve 158. pozisyonda arginin amino asitleri tespit edilmiştir. ApoE4 mutasyonu (SNP rs429358) 112. pozisyondaki amino asidi etkileyerek timin yerine sitozin geçmesine neden olur ve sistein yerine arginin translasyonuna neden olur. ApoE2 mutasyonu (SNP rs7412) ise 158. pozisyondaki amino asidi etkileyerek sitozinin timin olarak değişmesine ve arginin yerine sisteinin translasyonuna neden olur (Şekil 1).

APOE2	APOE3	APOE4
• CYS 112: TGC	• CYS 112: TGC	• ARG 112: CGC
• CYS 158: TGC	• ARG 158: CGC	• ARG 158: CGC

Şekil 1. İnsan APOE geninin şematik diyagramı ve 3 alel ε2, ε3 ve ε4 ile sonuçlanan 2 tek nükleotiddeki polimorfizmler.

4. Araçlar ve malzemeler

APO-Easy® Genotipleme kiti, ThermoFisher QS5-Dx kullanarak APOE mutasyonlarının qPCR amplifikasyonunu ve florojenik tespitini gerçekleştirmek için sarf malzemeleri içerir (ekipman kitle birlikte verilmez). Analiz için gerekli olan ancak kit ile birlikte verilmeyen ekipmanlar ve referansları Tablo 1'de verilmiştir.

Tablo 1. APO-Easy® Genotipleme kitini gerçekleştirmek için gereken ekipman referansı

Araç	Amaç	Üretici	Referans no.	Sertifikasyonlar
Nanodrop 2000/2000c	gDNA kantifikasyonu	ThermoFisher	ND-2000	UL/CSA ve CE
QS5-Dx	qPCR	ThermoFisher	A31928/A47324	FDA 510K (K190302)

Tam kan PAXgene DNA tüplerinden gDNA ekstraksiyonu için Firalis, kit ile birlikte verilen üretici talimatını izleyerek tablo 2'de verilen referansın kullanılmasını önerir.

Başka bir referans kullanılırsa Firalis analizinin sonuçlarını veya performansını garanti edemez. Numuneler, toplama tüpü üreticisi tarafından sağlanan kullanım talimatlarına göre PAXgene® Kan DNA Tüpünde (BD Biosciences, Referans no: 761165) toplanmalıdır.

Tablo 2. Önerilen gDNA ekstraksiyon kitinin referansı (APO-Easy® Genotipleme kiti ile birlikte verilmez).

Açıklama	Üretici	Amaç	Depolama	Referans	Miktar
QIAamp DSP DNA Kan Mini kiti	Qiagen	gDNA ekstraksiyonu	Tedarikçinin tavsiyesine göre	61104	1kit/50numune

4.1. Kit ile birlikte verilen reaktifler ve malzemeler

APO-Easy® Genotipleme kiti SNP başına 32 reaksiyon için kullanıma hazır ana karışımlar, pozitif kontroller içerir: Standart A, Standart B, Standart C, Standart D, Standart E ve bir şişe şablonsuz kontrol (NTC). Standartlar için 6 reaksiyon ve her SNP için 2 NTC dâhil olmak üzere bir kittedeki reaktifler kullanılarak her analiz için toplam 32 reaksiyon mümkündür (Tablo 3).

Tablo 3. APO-Easy® Genotipleme kitinin içeriği.

Açıklama	Depolama	Referans	Miktar (32 reaksiyon)
TaqMan™ Genotipleme Ana Karışımı 1 rs429358	-15°C ila -25°C	FLS-MM1OE-02	1 flakon
TaqMan™ Genotipleme Ana Karışımı 2 rs7412	-15°C ila -25°C	FLS-MM2OE-02	1 flakon
Şablonsuz Kontrol [Negatif Kontrol] (NTC)	-15°C ila -25°C	FLS-NTC-01	1 flakon
Standart A: Mutant (MUT) rs7412	-15 ila -25°C	FLS-OE2S-01	1 flakon
Standart B: Yabanıl Tip (WT) rs429358 ve rs7412	-15 ila -25°C	FLS-OE3S-01	1 flakon
Standart C: Mutant (MUT) rs429358	-15 ila -25°C	FLS-OE4S-01	1 flakon
Standart D: Heterozigot (Het) rs7412	-15 ila -25°C	FLS-OE23S-01	1 flakon
Standart E: Heterozigot (Het) rs429358	-15 ila -25°C	FLS-OE34S-01	1 flakon

*Pozitif kontroller: Standart A, Standart B, Standart C, Standart D, Standart E. Negatif kontrol: NTC

4.2. İhtiyaç duyulan çeşitli malzeme ve ekipmanlar

- İ Nükleaz içermeyen su
- İ Yalnızca sertifikalı nükleaz içermeyen uçlar ve mikrosantrifüj tüpleri kullanın
- İ Hassas pipetler - Çok kanallı pipet
- İ BSL2 kabini
- İ Mikro santrifüj (17000 Bağıl Santrifüj Kuvveti (RCF))
- İ Vorteks ve mikrosantrifüj
- İ Gerçek zamanlı PCR plakaları
- İ Kompakt PCR plakaları döndürücü

4.3. Kit saklama gereksinimleri ve kitin raf ömrü

- İ Kit -20°C'de saklanmalıdır.
- İ Kit bileşenleri üç kez tekrar tekrar çözülüp dondurulabilir ve stabil kalabilir. Önerilen dondurma ve çözme döngüsünün aşılması kitin işlevselliğini azaltabilir.
- İ Kit, kutu etiketinde belirtilen son kullanma tarihine kadar stabildir.

5. Genomik DNA (gDNA) ekstraksiyonu ve kantifikasyonu

5.1. Ekstraksiyon

PAXgene Blood DNA tüplerine toplanan tam insan kanından gDNA'nın QIAamp DSP DNA Blood Mini kiti kullanılarak kitle birlikte verilen kullanıcı talimatları veri sayfasını takiben tablo 2'de verildiği şekilde ekstraksiyonu.

5.2. Kantifikasyon

Çıkarılan gDNA'nın kantifikasyonu Nanodrop kullanılarak yapılır. Kullanılacak örneklerin konsantrasyonu minimum 6.25 ng/μL maksimum 50 ng/μL olmalıdır. Numuneler önerilen konsantrasyondan daha yüksek konsantrasyona sahipse Nükleazsız su (Moleküler sınıf) içinde seyreltilmelidir. Numuneler gerekli miktardan daha düşük konsantrasyona sahipse toplamda 2 μL kullanılması önerilir.

APO-Easy® Genotipleme testi için kullanılacak toplam gDNA miktarı 12.5-100 ng arasındadır.

6. APO-Easy® Genotipleme analiz prosedürü

APO-Easy genotipleme analizi iş akışına genel bakış Tablo 4'te sunulmuştur. Analiz için gerekli süre şöyledir: 2h30.

Tablo 4. APO-Easy genotipleme analizi iş akışına genel bakış.

İş Akışı	
Adım 1	Gerçek zamanlı genotipleme PCR reaksiyonu hazırlama
Adım 2	qPCR uygulaması
Adım 3	Sonuç analizi
Adım 4	Yorumlama

6.1. Adım 1. Gerçek zamanlı genotipleme PCR reaksiyonu hazırlama

Kit, APOE SNP'lerini (rs429358 ve rs7412) değerlendirmek için kullanıma hazır iki TaqMan™ Genotipleme Ana Karışımı, NTC için nükleaz içermeyen su ve her bir tek nükleotid polimorfizmi (SNP) için yabanıl tip, mutant ve heterozigot koşulları taklit eden standartlardan oluşur.

Her bir ana karışım ilgili SNP'yi değerlendiren bir dualplex analizidir:

Ana karışım 1: SNP rs429358'i değerlendirmek için 2 probdan oluşur ve yabanıl tip nükleotit (T), mutant nükleotit (C) ve heterozigot durum için alel ayırımına izin verir.

Ana karışım 2: SNP rs7412'yi değerlendirmek için 2 probdan oluşur ve yabanıl tip nükleotit (C), mutant nükleotit (T) ve heterozigot durum için alel ayırımına izin verir.

Standart A, B, C, D ve E:

Her bir standart (STD), üç aleli taklit etmek üzere tasarlanmış bir DNA şablonu ve heterozigot durumu taklit eden farklı DNA şablonlarının kombinasyonudur.

Standart A: ApoE2 alelinin DNA şablonu

Standart B: ApoE3 alelinin DNA şablonu

Standart C: ApoE4 alelinin DNA şablonu

Standart D: ApoE2 ve ApoE3 aleli içeren DNA şablonu

Standart E: ApoE3 ve ApoE4 aleli içeren DNA şablonu

Not: Ana karışımları ve standartları buz üzerinde çözündürün. Reaktifleri iyice karıştırın ve kısa bir süre döndürüp buzun üzerine koyun.

1. 96 kuyulu bir plakaya 23 µL/kuyu saptama analizi ana karışımı dağıtın (her numune için her iki SNP'ye karşılık gelen ana karışım eklenmelidir).
2. İlgili kuyucuklara 2 µL gDNA veya Standartlar ekleyin ve kısa bir süre döndürün. Toplam gDNA miktarı 12.5-100 ng arasında olmalıdır.
 - Her bir SNP için **WT, MUT ve HET standartlarının** yanı sıra **NTC** (nükleaz içermeyen Su moleküler sınıfı) analizi gerekir. Tablo 5'te 96 kuyucuklu bir PCR plakasında 2 SNP için ölçülen 24 adede kadar PAXgene DNA numunesinin analizi için bir model yerleşim planı gösterilmektedir.
 - Not: APO-Easy genotipleme kiti 32 adede kadar qPCR reaksiyonu gerçekleştirmeye izin verir. Her ana karışım 8 STD ve en fazla 24 numune içindir. Daha az sayıda numune değerlendirilecekse kit iki kez kullanılabilir, örneğin 8 STD artı 8 hasta bir kez değerlendirilebilir ve ikinci kez yine 8 STD artı 8 hasta değerlendirilebilir.

Tablo 5. APO-Easy® Genotipleme kiti için 24 numune, 3 kontrol/SNP ve 2 NTCs/SNP'nin APOE genotiplemesi için 96 kuyucuklu bir plakanın model düzeni.

APOE (rs429358)						APOE (rs7412)						
	Col 1	Col 2	Col 3	Col 4	Col 5	Col 6	Col 7	Col 8	Col 9	Col 10	Col 11	Col 12
A	STD B: WT	Numune No: 1	Numune No: 9	Numune No: 17			STD B: WT	Numune No: 1	Numune No: 9	Numune No: 17		
B	STD B: WT	Numune No: 2	Numune No: 10	Numune No: 18			STD B: WT	Numune No: 2	Numune No: 10	Numune No: 18		
C	STD C: MUT	Numune No: 3	Numune No: 11	Numune No: 19			STD A: MUT	Numune No: 3	Numune No: 11	Numune No: 19		
D	STD C: MUT	Numune No: 4	Numune No: 12	Numune No: 20			STD A: MUT	Numune No: 4	Numune No: 12	Numune No: 20		
E	STD E: HET	Numune No: 5	Numune No: 13	Numune No: 21			STD D: HET	Numune No: 5	Numune No: 13	Numune No: 21		
F	STD E: HET	Numune No: 6	Numune No: 14	Numune No: 22			STD D: HET	Numune No: 6	Numune No: 14	Numune No: 22		
G	NTC	Numune No: 7	Numune No: 15	Numune No: 23			NTC	Numune No: 7	Numune No: 15	Numune No: 23		
H	NTC	Numune No: 8	Numune No: 16	Numune No: 24			NTC	Numune No: 8	Numune No: 16	Numune No: 24		

- Her SNP analiz tayini için aşağıda verilen STD kullanılmalıdır. rs429358 (Master mix 1) için B, C ve E standartları kullanılmalıdır ve rs7412'yi (Master mix 2) değerlendirmek için B, A ve D standartları kullanılmalıdır (Tablo 6).

Tablo 6. APO-Easy genotipleme analizinin SNP belirlemesi için standart yazışma.

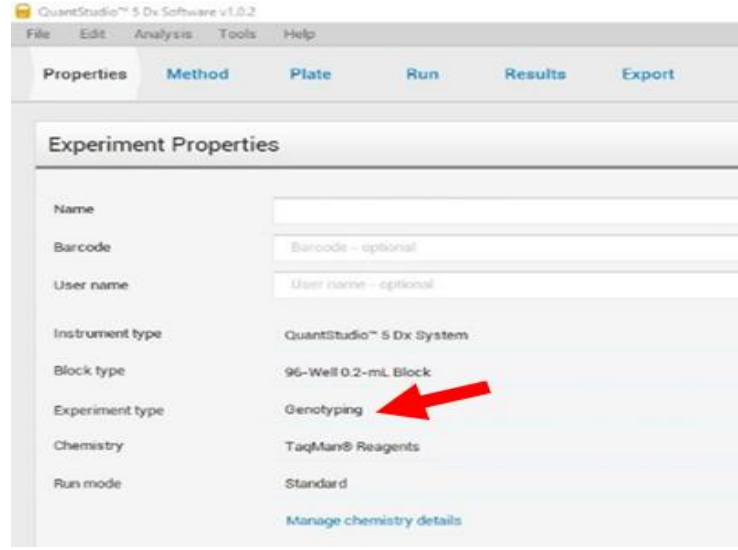
APOE (rs429358)	APOE (rs7412)
STD B (WT)	STD B (WT)
STD C (MUT)	STD A (MUT)
STD E (HET)	STD D (HET)

- Plakayı 5 saniye boyunca vorteksleyin ve 30 saniye boyunca 500 g'de santrifüjleyin.
- Uygulamayı **hemen** başlatmaya devam edin.

6.2. Adım 2. qPCR uygulaması

5. APO-Easy genotipleme analizi için QS5 Dx'in ayarlanması:

- “Özellikler” sayfasında deney adını atayın ve deney türünü **genotipleme** olarak seçin (Şekil 2).



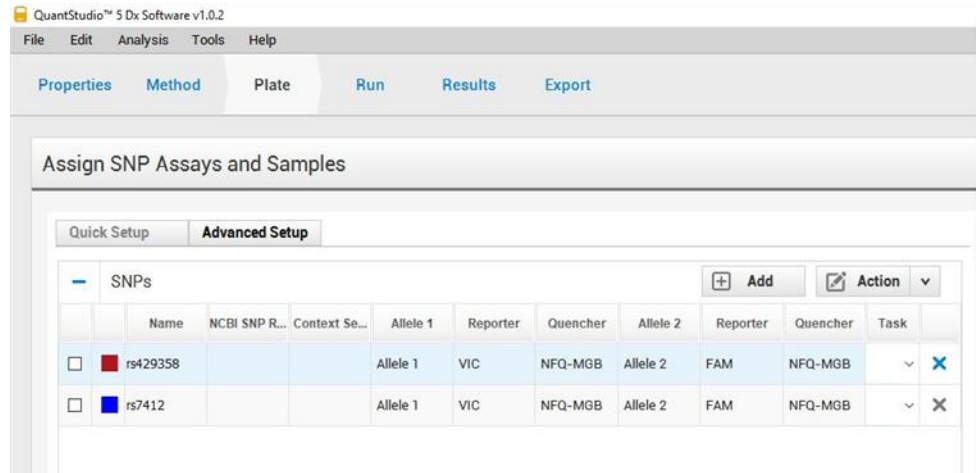
Şekil 2. QS5 yazılımındaki deney özelliklerinde deney tipi seçimi. Genotiplemeyi seçtiğinizden emin olun (kırmızı ok).

B. “Yöntem” sayfasında PCR reaksiyonunun toplam hacmini, **25 µL** reaksiyon karışımını ayarlayın.

C. “Plaka sayfasında” floresanı ayarlamak için gelişmiş Kurulumla gidin, **iki SNP analizi** (SNP Analizi 1 ve SNP Analizi 2) elde etmek için “(+) Ekle düğmesine” tıklayın. Devam etmek için Tamam düğmesine tıklayın. Ardından her bir SNP Analizi için Eylem düğmesine tıklayın ve Düzenle’yi seçerek adı aşağıdaki gibi doldurun (Şekil 3):

NOT: SNP Analizi 1 için: rs429358 (Ana karışım 1). **Alel 1’in** raportör **VIC** ile ve **Alel 2’nin** raportör **FAM** ile ayarlandığından emin olun

SNP Analizi 2 için: rs7412 (Ana karışım 2). **Alel 1’in** raportör **VIC** ile ve **Alel 2’nin** raportör **FAM** ile ayarlandığından emin olun



Şekil 3. QS5 yazılımında APO-Easy genotipleme kiti için SNP kurulumu.

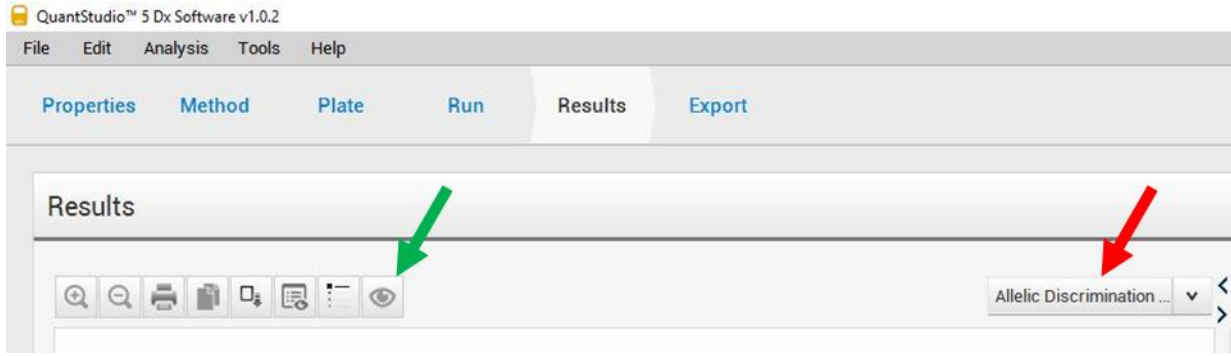
6. rs429358 (Ana karışım 1) Standartlarını tanımlamak için plaka tasarımında sütun 1'i seçin ve SNP Analizi1 (rs429358) seçeneğini belirleyin. Ardından A1 ve B1'i ("STD B (WT)") seçin ve görev çubuğunda 2/2 atayın. C1 ve D1'i ("STD C (MUT)") seçin ve görev çubuğunda 1/1 atayın. E1 ve F1'i ("STD E (HET)") seçin ve görev çubuğunda 1/2 atayın. G1 ve H1'i seçin ve "NTC" görev çubuğuna N atayın.
7. rs7412 (Master mix 2) Standartlarını tanımlamak için plaka tasarımında sütun 7'yi seçin ve SNP Analiz2 (rs7412) seçeneğini belirleyin. Ardından A7 ve B7'yi ("STD B (WT)") seçin ve görev çubuğunda 1/1 atayın. C7 ve D7'yi ("STD A (MUT)") seçin ve görev çubuğunda 2/2 atayın. E7 ve F7'yi ("STD D (HET)") seçin ve görev çubuğunda 1/2 atayın. G7 ve H7'yi seçin ve "NTC" görev çubuğuna N atayın.
8. rs429358 (Ana karışım 1) için Numuneleri tanımlamak üzere plaka tasarımında 2 ila 4. sütunları seçin ve SNP Analizi1 (rs429358) ögesini seçin.
9. rs7412 (Ana karışım 2) için Numuneleri tanımlamak üzere plaka tasarımında 8 ila 10. sütunları seçin ve SNP Analizi2 (rs7412) ögesini seçin.
10. Plaka hazır olduğunda ve kurulum tamamlandığında "Uygulama" sayfasına gidin ve uygulamayı başlatın.
11. qPCR uygulama programı QS5-Dx tarafından otomatik olarak seçilecektir ve program özellikleri Tablo 7'de belirtildiği gibi olmalıdır:

Tablo 7. QS5 cihazında qPCR uygulama programı.

Program	Sıcaklık °C	Zaman	Döngüler
Aktivasyon	95	10 dk	
Denatürasyon	95	15 sn	40
Uzatma	60	1 dk	

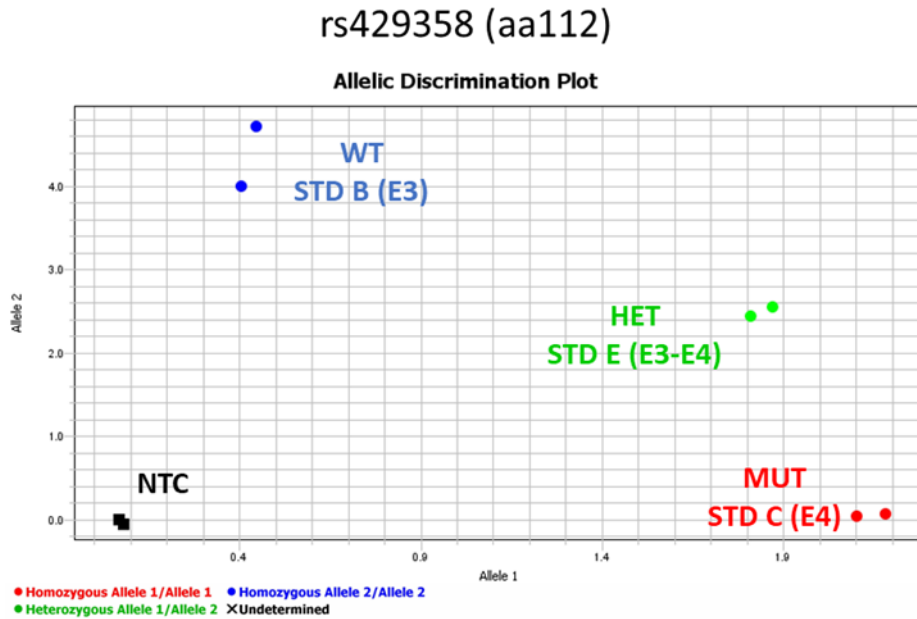
6.3. Adım 3. Sonuç analizi

Numune sonuç analizinden önce STD için elde edilen sinyali alel ayırım modunda ilgili tespit analiziyle doğrulayın. qPCR uygulama sonuçları QS5 Dx yazılımının sonuçlar sayfasında bulunabilir (Şekil 4). Bu sayfada Alel Ayırımı (kırmızı ok) seçin. Analiz geçerliliği her mutasyon için ayrı ayrı değerlendirilmelidir. rs429358 veya rs7412 seçimi, yeşil okla vurgulanan simgeye tıklanarak yapılabilir.



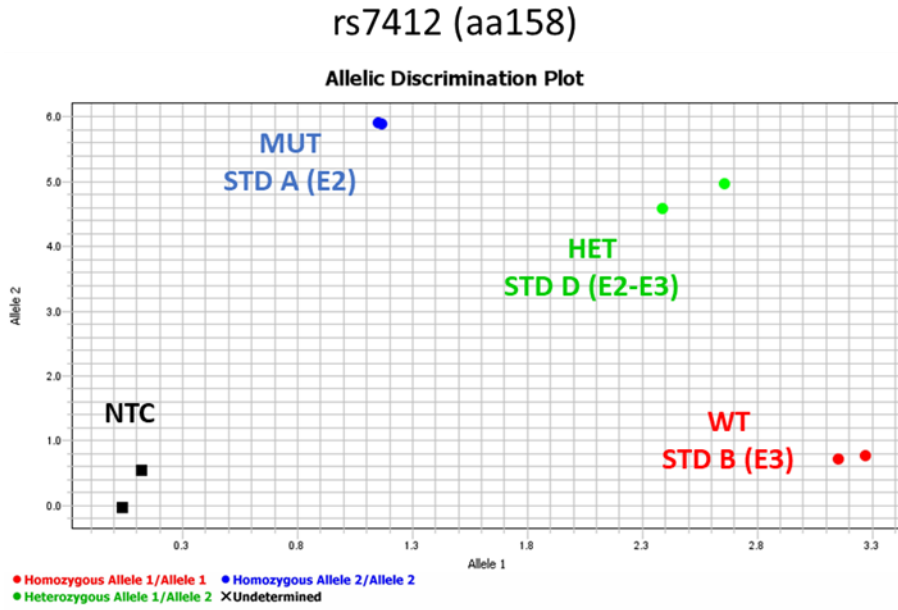
Şekil 4. QS5 yazılımındaki qPCR uygulama sonuçları sayfası. Kırmızı ok seçilecek sonuç türünü (Allelic Discrimination) ve yeşil ok SNP'lerin seçileceği simgeyi gösterir.

STD ve NTC için STD sinyalleri aşağıdaki örneğe karşılık geldiğinde analiz devam edebilir. Standartlarınızın Şekil 3'te gösterildiği gibi benzer bir desene sahip olduğundan emin olun. rs429358 için yabancıl tip (WT), homozigot alel2/alel2'ye (e3) karşılık gelen y ekseninde (alel 2) grafiğin sol üst bölgesinde sinyale sahip olacaktır. Mutant (MUT) standardı, grafiğin sağ alt kısmında alel1/alel1'e (e4) karşılık gelen x eksenine (alel 1) yakın bir sinyale sahip olacaktır. Heterozigot standart, **Şekil 5**'te gösterildiği gibi heterozigot alel1/alel2'ye (e3/e4) karşılık gelen MUT ve WT arasında olacaktır. NTC herhangi bir sinyal üretmeyecek ve grafiğin sol alt kısmında bulunacaktır.



Şekil 5. QPCR analizinden sonra SNP rs429358 (Master mix 1) için standartların sinyal modeli.

rs7412 için yabancıl tip (WT), homozigot alel1/alel1'e (e3) karşılık gelen grafiğin x eksenine yakın sağ alt bölgesinde sinyale sahip olacaktır. Mutant (MUT) standardı, alel2/alel2'ye (e2) karşılık gelen grafiğin y ekseninin sol üst alanında bir sinyale sahip olacaktır. Heterozigot standardı, **Şekil 6**'da gösterildiği gibi heterozigot alel1/alel2'ye (e2/e3) karşılık gelen MUT ve WT arasında olacaktır. NTC herhangi bir sinyal üretmeyecek ve grafiğin sol alt kısmında bulunacaktır.



Şekil 6. qPCR analizinden sonra SNP rs7412 (Ana karışım 2) için standartların sinyallerinin modeli.

6.4. Adım 4. Yorumlama

Kontroller doğrulandıktan sonra numune sinyalleri kırmızı okla vurgulanan simgeye tıklanarak yorumlanır. Her SNP için hasta durumu “Çağrı” sütununda mevcuttur (yeşil ok; Şekil 7).

							Action	Save
							View	Group by
#	Well	Sample Na...	SNP Assay...	Task	Allele 1	Allele 2	Call	
1	A1		rs429358	Unknown	Allele 1	Allele 2	Homozygous Allele 2/Allele 2	
2	A2		rs429358	Unknown	Allele 1	Allele 2	Homozygous Allele 2/Allele 2	
3	A3		rs429358	Unknown	Allele 1	Allele 2	Heterozygous Allele 1/Allele 2	

Şekil 7. Sonuçların QS5 yazılımı üzerinde yorumlanması. Kırmızı ok sinyali yorumlayan simgeyi, yeşil ok ise sonuç analizinden sonra yazılım tarafından belirlenen her bir SNP için hasta durumunu gösterir.

rs429358 için, Homozigot Alel 2 / Alel 2 WT'ye, Homozigot Alel 1 / Alel 1 MUT'ye ve Heterozigot Alel 1 / Alel 2 HET'ye karşılık gelir.

rs7412 için, Homozigot Alel 1 / Alel 1 WT'ye, Homozigot Alel 2 / Alel 2 MUT'ye ve Heterozigot Alel 1 / Alel 2 HET'ye karşılık gelir.

Her SNP için durum atandıktan sonra numunenin genotipi aşağıda verilen Tablo 8 kullanılarak belirlenebilir.

Tablo 8. SNP rs429358 ve rs7412 sonuçlarından genotipin yorumlanması.

rs429358	rs7412	Genotip
WT	MUT	e2/e2
WT	HET	e2/e3
WT	WT	e3/e3
HET	HET	e2/e4
MUT	WT	e4/e4
HET	WT	e3/e4

7. Sorun Giderme

Test sonuçlarının değerlendirilmesi, pozitif ve negatif kontroller incelendikten ve geçerli ve kabul edilebilir oldukları belirlendikten sonra yapılmalıdır. Kontroller geçerli değilse Numune sonuçları yorumlanamaz.

Analiz hatası ile karşılaşılırsa:

- Tek tek reaktiflerin son kullanma tarihlerini kontrol edin ve tüm reaktiflerin ürün etiketinde belirtildiği şekilde saklandığından emin olun. Saklama koşullarına tam olarak uyulmıyorsa sonuçlar güvenilir değildir ve kit artık kullanılamaz.
- Kullanılan pipetlerin kalibrasyonlarının güncel olduğundan emin olun.
- Döngüleyici ayarlarının IFU'ya uygun olduğundan emin olun.

Analiz sırasındaki bazı bulguların olası nedenleri ve düzeltici eylemler aşağıdaki Tablo 9'da verilmiştir.

Tablo 9. APO-Easy genotipleme kiti sorun giderme önerileri.

Bulgular	Olası nedenler ve düzeltici faaliyetler
Bir numune için tüm kanallarda çağrı yok	Olasılık: gDNA kalitesiyle ilgili sorunlar veya parazit maddeler Öneri: numuneyi tekrar çıkarın ve qPCR'yi yeniden yapın.
Bir veya iki kanalda sinyal yok	Olasılık: yalnızca bir numune içinse qPCR'yi yeniden yapın; tüm numuneler içinse kitin son kullanma tarihini ve saklama koşulunu kontrol edin.
Bir SNP için belirlenmemiş genotip	Olasılık: gDNA girişi yeterli değildi. Öneri: Testi yeniden yapın. Aynı analiz sırasında aynı numune için 23µL ana karışım ile 2µL numune gDNA'sı ve 21µL ana karışım ile 4µL numune gDNA'sı kullanın.
Tekrar test yapıldıktan sonra genotip hala belirlenmemiştir	Olasılık: numunede karışan bir maddenin varlığı. Öneri: - PAXgene DNA tüpüne K2EDTA eklenmesi numunenin genotiplemesini engelleyebilir, lütfen tüpe EDTA eklenip eklenmediğini veya kan numunesi hacminin üreticinin kullanım talimatlarına göre uygun şekilde toplanıp toplanmadığını kontrol edin.

	- Kandaki trigliseridler fizyolojik konsantrasyonu aşmamalıdır (normal kan aralığı konsantrasyonu: 0,5 - 1,5 g/L). Kan numunesinde fazla miktarda trigliserit varsa bu durum hastanın doğru genotiplendirilmesini engelleyebilir. - Albümin fizyolojik konsantrasyonu aşmamalıdır (normal kan aralığı konsantrasyonu: 35 - 50 g/L). Hastanın kan numunesinde bu konsantrasyonun üzerinde albümin bulunması genotipleme sonuçlarını etkileyebilir. Sorun devam ederse teknik yardıma başvurun.
Kontrollerde sinyal yok	Saklama koşullarına ve verilen talimatlara uyulduğunu teyit edin. Bir pipetleme sorunu meydana gelmiş olabilir. Öneri: Testi yeniden yapın. Hala sinyal alamıyorsanız teknik yardım ile iletişime geçin.
NTC'deki sinyal	Olasılık: reaksiyon karışımı büyük olasılıkla bir şablon ile kontamine olmuştur. Öneri: qPCR'yi yeniden yapın. Sorun devam ederse kiti daha fazla kullanmayın ve teknik yardıma başvurun.

8. Analitik Parametreler

Doğruluk: APO-Easy® genotipleme kiti, referans yöntemlerle (Sanger çift yönlü dizileme ve Yeni Nesil Dizileme) karşılaştırıldığında APOE genotiplerini saptamada %100 doğruluğa sahiptir.

Duyarlılık: APO-Easy® genotipleme analizi, QuantStudio 5 Dx Gerçek Zamanlı PCR Sistemi ile kullanıldığında 12,5 ng insan gDNA'sını tespit eder.

Hassasiyet: APO-Easy® genotipleme kiti farklı lotları test ederken veya farklı operatörler tarafından kullanıldığında %100 pozitif uyum sonuçları ile tekrarlanabilir.

Girişimler: %20'ye kadar etanol fazlalığı, 200 mg/mL'ye kadar bilirubin fazlalığı, 20 mg/mL'ye kadar K2EDTA fazlalığı, 25 g/L'ye kadar albümin fazlalığı, 100 g/L'ye kadar hemogloblin fazlalığı veya numunede 18,2 g/L'ye kadar trigliserit fazlalığı genotipleme sonuçlarını **etkilemez**.

9. Klinik Performans

APO-Easy genotipleme kiti, sonuçlar Sanger çift yönlü dizileme ve Hedefli Yeni Nesil Dizileme ile karşılaştırıldığında %100 pozitif yüzde uyumuna sahip olduğundan kullanım amacını karşılamaktadır.

Tablo 10. APO-Easy genotipleme analizi %100 doğruluğa sahiptir

APOE genotipi	APO-Easy®	Hedefe Yönelik NGS	Doğru genotip belirlemeleri	Doğruluk	Sanger dizileme	Doğru genotip belirlemeleri	Doğruluk
e3/e3	25	25	25	100	25	25	100

e4/e4	21	21	21	100	21	21	100
e2/e4	6	6	6	100	6	6	100
e3/e4	23	23	23	100	23	23	100
e2/e3	21	21	21	100	21	21	100

Alzheimer Hastalığı deneklerinin APOE genotip frekansları, Alzheimer Hastalığı olmayan ve Sağlıklı Kontrol deneklerinin frekansları ile karşılaştırıldığında ε4 alelinin iki kopyasının (e4/e4 homozigot) varlığı, e2/e3'e kıyasla AH riskini 48,56 kat artırmıştır. ε4 alelinin bir kopyasının varlığı e2/e3 ile karşılaştırıldığında e3/e4 heterozigotları ve e2/e4 heterozigotları için AD riskini sırasıyla 9,54 kat ve 5,78 kat artırmıştır.

Tablo 11. AD ve NAD + HC arasında genotip bazlı karşılaştırmalar

Genotip	Grup		OR [%95 CI]	p
	AD (n=234)	NAD + HC (n=302)		
e2/e2	0 (0)	1 (0.33)	1.47 [0.05-39.32]	0.8181
e2/e3	8 (3.42)	37 (12.25)	1 (ref)	
e2/e4	5 (2.14)	4 (1.32)	5.78 [1.26-26.45]	0.0237*
e3/e3	80 (34.19)	208 (68.87)	1.78 [0.79-3.98]	0.1616
e3/e4	99 (42.31)	48(15.89)	9.54 [4.12-22.06]	<0.0001*
e4/e4	42 (17.95)	4 (1.32)	48.56 [13.52-174.49]	<0.0001*

10. Kalan Riskler ve Uyarılar

APO-Easy® genotipleme kiti tasarımı ve performans özellikleri, amaçlanan hasta popülasyonunu temsil eden popülasyonlar test edilirken doğrulandığı gibi kurum içinde ve amaçlanan kullanıcıların elinde kapsamlı testlerle optimize edilmiştir. Üretici Şirket Firalıs, genetik testler için kullanıcılara ve hastalara yönelik kalan risklerin asgari düzeyde ve kabul edilebilir olduğunu düşünmektedir.

- Negatif sonuçlar sağlık risklerini ortadan kaldırmaz ve hasta yönetimi kararları için tek temel olarak kullanılmamalıdır.
- Negatif ve Pozitif sonuçlar klinik gözlemler, hasta geçmişi ve diğer test bilgileri ile birleştirilmelidir.

Test amaçlandığı gibi kullanılırsa APO-Easy Genotyping kitinin kullanım riskleri minimumdur. Kullanıcılar aşağıdaki tavsiyelere uyarak riski daha da azaltabilirler:

Numunelerin Kontaminasyonu: Numunelerin yabancı DNA veya olası girişimcilerle kontaminasyonu hatalı sonuçlara yol açabilir. Temiz çalışma alanlarının, tek kullanımlık eldivenlerin ve numune hazırlama için özel ekipmanların kullanılması bu kalıntı riski azaltacaktır.

Çapraz kontaminasyon: reaktiflerin veya numunelerin yanlış kullanımı numuneler arasında çapraz kontaminasyona neden olarak hatalı sonuçlara yol açabilir. Numune hazırlama, DNA ekstraksiyonu ve PCR kurulumu için ayrı çalışma alanları sağlayın ve çapraz kontaminasyonu önlemek için pipetleri ve diğer ekipmanları kullanırken temiz bir ortamda çalışın.

Sonuçların Okunması: deneyimsiz kullanıcılar sonuçları yanlış yorumlayarak yanlış sonuçlara varabilirler. APO-Easy genotipleme analizinin yorumlanması yanlış sonuç belirleme riskini en aza indirmek için yüksek eğitimli personel tarafından yapılmalıdır.

Yetersiz Eğitim: Yetersiz eğitim veya deneyime sahip kullanıcılar analiz kurulumu veya yorumlamasında hata yapmaya daha yatkın olabilir. APO-Easy testinin sadece yüksek nitelikli personel tarafından kullanılmasını tavsiye ediyoruz.

11. Prosedürün Sınırlamaları

- ❗ Reaktifler tedavi amaçlı prosedürlerde kullanılmak üzere değildir.
- ❗ Otomatik bir yöntem değildir ve kendi kendine test cihazı değildir.
- ❗ Bu analiz, analiz tespit aralığı dâhilinde insan PAXgene DNA tüplerinden APOE genotipini saptamak üzere tasarlanmıştır.
- ❗ Bu analizden elde edilen sonuçlar, ilgili tüm klinik ve laboratuvar bulguları çerçevesinde değerlendirilmelidir ve tek başına herhangi bir tanı koymak için kullanılmamalıdır.
- ❗ Numunelerin, kit reaktiflerinin dikkatli bir şekilde işlenmesi ve temiz bir çalışma ortamı sağlanması yoluyla dış kaynaklardan gelen genomik materyal kontaminasyonu önlenmelidir.
- ❗ Operatörler işlemler sırasında mikrobiyal kontaminasyondan kaçınmalı ve mikrobiyal üreme belirtisi gözlemlenirse kit bileşenlerini kullanmamalıdır.
- ❗ Bu kit, QS5-Dx Gerçek Zamanlı PCR Sistemi (ThermoFisher) ile kullanılmak üzere tasarlanmıştır.
- ❗ Optimal sonuçlar elde etmek için Analiz Kiti Kullanım Talimatlarında verilen önerilere sıkı sıkıya uyulması gereklidir.
- ❗ Kit içindeki her bir kutunun son kullanma tarihleri ve saklama koşullarına dikkat edilmelidir. Son kullanma tarihi geçmişse veya yanlış saklanmışsa kullanmayınız.
- ❗ Reaktifleri başka lotlardan veya kaynaklardan gelenlerle karıştırmayın veya değiştirmeyin.
- ❗ Yalnızca sertifikalı nükleaz içermeyen uçlar ve mikrosantrifüj tüpleri kullanın.
- ❗ Temiz kaplarda saklanan Nükleaz içermeyen su kullanın.
- ❗ Kullanma Talimatı'nda (IFU) belirtilen süreçte yapılacak herhangi bir değişiklik, sonuçlarda farklılıklara yol açabilir.
- ❗ APO-Easy® genotipleme, tedaviye yanıtı öngörmek veya tespit etmek ya da hastalar için en uygun tedaviyi seçmeye yardımcı olmak için tasarlanmamıştır.

12. Kimyasal güvenlik yönergeleri

Kimyasalların tehlikelerini en aza indirmek için:

- Herhangi bir kimyasalı veya tehlikeli maddeyi depolamadan, kullanmadan veya bunlarla çalışmadan önce kimyasal üreticisi tarafından sağlanan Güvenlik Bilgi Formlarını (SDS'ler) okuyun ve anlayın.
- Kimyasallarla doğrudan temastan kaçınin.
- Kimyasallarla çalışırken koruyucu gözlük, eldiven ve koruyucu giysi gibi uygun kişisel koruyucu ekipman kullanın.
- Kimyasalların solunmasından kaçınin. Sigara içmeyin veya kimyasal kapları açık bırakmayın. Yalnızca uygun havalandırma veya çeker ocak ile birlikte kullanın.
- Ek güvenlik yönergeleri için SDS'ye bakın.
- Kimyasal sızıntı veya dökülme olup olmadığını düzenli olarak kontrol edin. Bir sızıntı veya dökülme meydana gelirse SDS'de önerildiği gibi üreticinin temizleme prosedürlerini izleyin.
- Kimyasalların depolanması, taşınması ve bertaraf edilmesiyle ilgili tüm yerel, eyalet/il veya ulusal yasa ve yönetmeliklere uyun.

13. Teknik bilgiler

- DNA ekstraksiyonu ile ilgili teknik yardım için Qiagen tarafından önerilen QIAamp DSP DNA kan mini Kitiyle (ref: 61104) birlikte sağlanan veri sayfasına bakın.
- Numuneler ve reaktifler arasında herhangi bir kontaminasyon olmasını önleyin. Bu amaçla her adımda uçları değiştirin. Reaktiflerdeki bakteriyel veya fungal kontaminasyon hatalı sonuçlara neden olabilir.
- Sarf malzemelerini ve kullanılmayan içerikleri uygun kaplarda bertaraf edin.
- Prosedür yalnızca PAXgene DNA tüplerinden alınan tam kan ile kullanım için uygundur.

14. Sorumluluk

- Bu kit sadece PAXgene DNA tüplerinden alınan insan tam kanında APOE genotipinin *in vitro* tayini için tasarlanmıştır..
- Bu kit sadece kalifiye personel tarafından kullanılmak üzere tasarlanmıştır.
- Firalıs, kitin bu talimatlarda açıkça belirtilenden başka bir şekilde kullanılmasından kaynaklanan herhangi bir hasar veya kayıptan sorumlu olmayacaktır.
- Firalıs, kitin bu talimatlarda açıkça belirtilenden başka bir şekilde kullanılmasından kaynaklanan herhangi bir hasar veya kayıptan sorumlu olmayacaktır.

Teknik yardım

Teknik yardım için +33-389 911 320 numaralı telefondan Firalis SA Teknik Hizmetleri'ni arayın veya <http://www.firalis.com> adresindeki Firalis SA web sitesini ziyaret edin ya da “contact@firalis.com” ile iletişime geçin.

Ciddi olay raporu bildirimi

Ciddi bir olay, bir cihazın özelliklerinde veya performansında herhangi bir arızaya veya bozulmaya neden olur ve aşağıdaki sonuçlardan en az birinde sınıflandırılabilir:

- Bir hastanın, kullanıcının veya başka bir kişinin ölümü
- Bir hastanın, kullanıcının veya başka bir kişinin sağlık durumunda geçici veya kalıcı ciddi bir bozulma
- Ciddi bir halk sağlığı tehdidi.

Ciddi bir halk sağlığı tehdidi.

Raporlanabilir bir olayın söz konusu olduğu sonucuna varırsanız lütfen clinical@firalis.com adresinden üreticiyle iletişime geçin. Ülkenizdeki yetkili makamın iletişim bilgilerini de burada bulabilirsiniz: https://health.ec.europa.eu/medical-devices-sector/new-regulations/contacts_en.

Ciddi bir olayı bildirirken lütfen aşağıdaki bilgileri derleyin:

- Cihazın ticari adı (Ticari Marka için TM, Telif Hakkı için ©)
- Üreticinin adı ve adresi
- Lot numarası
- Seri numarası
- UDI (Benzersiz Cihaz Tanımlama) Kodu
- Ciddi olayın ve hasta, kullanıcı veya üçüncü bir taraf için ciddi veya muhtemelen ciddi sonuçlarının doğru ve özlü bir açıklaması.

İlgili cihaz imha edilmemeli ancak olayın nedenlerini belirlemek üzere daha fazla analiz için üreticiye verilmelidir. Olayı bildirmek için üreticiyle iletişime geçerken iade gönderi talebinizi ekleyebilirsiniz.

Güvenlik ve Performans Özeti

APO-Easy® Genotipleme kitinin Güvenlik ve Performans Özeti 2797 numaralı Onaylanmış Kuruluş (BSI grubu) tarafından doğrulanmıştır ve APO-Easy® Genotipleme kitinin UDI-DI numarası kullanılarak Avrupa tıbbi cihazlar veri tabanı (Eudamed) web sitesinde kamuya açıktır. Bu tanımlayıcı, kit ambalaj etiketine yerleştirilen QR kodu ile kullanılabilir.

Güvenlik ve Performans Özeti, APO-Easy® Genotipleme kiti ile ilgili her türlü bilgi ile düzenli olarak güncellenecektir.

Referanslar

1. Marias, A.D. Apolipoprotein E in lipoprotein metabolism, health, and cardiovascular disease. *Pathology* **2019**, *51*, 165–176.
2. Semaev, S.; Shakhtshneider, E.; Shcherbakova, L.; Ivanoshchuk, D.; Orlov, P.; Malyutina, S.; Gafarov, V.; Ragino, Y.; Voevoda, M. Associations of APOE Gene Variants rs429358 and rs7412 with Parameters of the Blood Lipid Profile and the Risk of Myocardial Infarction and Death in a White Population of Western Siberia. *Curr. Issues Mol. Biol.* **2022**, *44*, 1713-1724. <https://doi.org/10.3390/cimb44040118>.
3. Davis AA ve ark. (2020) APOE genotype regulates pathology and disease progression in synucleinopathy. *Sci Transl Med*:12(529)
4. Mishra A, Ferrari R, Heutink P, Hardy J, Pijnenburg Y, Posthuma D, ve ark. Gene-based association studies report genetic links for clinical subtypes of frontotemporal dementia. *Brain*. **2017**;140(5):1437–46.
5. Su WH, Shi ZH, Liu SL, Wang XD, Liu S, Ji Y. Updated meta-analysis of the role of APOE $\epsilon 2/\epsilon 3/\epsilon 4$ alleles in frontotemporal lobar degeneration. *Oncotarget*. **2017 Jul 4**;8(27):43721-43732. doi: 10.18632/oncotarget.17341.
6. Ohm, T., Scharnagl, H., März, W. ve ark. Apolipoprotein E isoforms and the development of low and high Braak stages of Alzheimer's disease-related lesions. *Acta Neuropathol* **98**, 273–280 (1999). <https://doi.org/10.1007/s004010051080>.
7. Yamazaki, Y., Zhao, N., Caulfield, T.R. ve ark. Apolipoprotein E and Alzheimer disease: pathobiology and targeting strategies. *Nat Rev Neurol* **15**, 501–518 (2019). <https://doi.org/10.1038/s41582-019-0228-7>.
8. Mayeux R, Saunders AM, Shea S, Mirra S, Evans D, Roses AD, ve ark. Utility of the apolipoprotein E genotype in the diagnosis of Alzheimer's disease. Alzheimer's disease centers consortium on Apolipoprotein E and Alzheimer's disease. *N Engl J Med*. **1998**;338(8):506-11.
9. Corder EH, Saunders AM, Strittmatter WJ, Schmechel DE, Gaskell PC, Small GW, Roses AD, Haines JL, Pericak-Vance MA. Gene dose of apolipoprotein E type 4 allele and the risk of Alzheimer's disease in late onset families. *Science*. **1993 Aug 13**;261(5123):921-3. doi: 10.1126/science.8346443. PMID: 8346443.
10. Schmechel DE, Saunders AM, Strittmatter WJ, Crain BJ, Hulette CM, Joo SH, Pericak-Vance MA, Goldgaber D, Roses AD. Increased amyloid beta-peptide deposition in cerebral cortex as a consequence of apolipoprotein E genotype in late-onset Alzheimer disease. *Proc Natl Acad Sci U S A*. **1993 Oct 15**;90(20):9649-53. doi: 10.1073/pnas.90.20.9649.
11. Strittmatter, W. J., Saunders, A. M., Schmechel, D., Pericak-Vance, M., Enghild, J., Salvesen, G. S., ve ark. (1993). Apolipoprotein E: high-avidity binding to beta-amyloid and increased frequency of type 4 allele in late-onset familial Alzheimer disease. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **90**, 1977–1981. doi: 10.1073/pnas.90.5.1977
12. Farrer LA, Cupples LA, Haines JL, ve ark. Effects of Age, Sex, and Ethnicity on the Association Between Apolipoprotein E Genotype and Alzheimer Disease: A Meta-analysis. *JAMA*. **1997**;278(16):1349–1356. doi:10.1001/jama.1997.03550160069041.

13. Bu G. Apolipoprotein E and its receptors in Alzheimer's disease: pathways, pathogenesis and therapy. Nat Rev Neurosci. 2009 May;10(5):333-44. doi: 10.1038/nrn2620.

IFU'da ve kitin etiketlerinde kullanılan sembol açıklaması

	<i>In vitro</i> tanı cihazı		Steril olmayan tıbbi cihaz
	Katalog numarası		Ambalaj hasarlıysa kullanmayın
	Parti kodu		GMED tarafından değerlendirilen Avrupa Uygunluğu
	Sıcaklık sınırlamaları		Uyarı
	Son kullanım tarihi		< n > test için yeterli miktarda içerir
	Üretim tarihi		Zehirli veya çok zehirli
	Üretici		Kullanım talimatlarına bakın
	Biyolojik risk		Yeniden kullanmayın

Yetkili Distrübütörler

- **United Kingdom Responsible Person (UKRP)**

Firma: Pathaway Services Ltd

Adres: Headlands House, 1, Kings Court, Kettering Parkway, Kettering, NN15 6WJ, United Kingdom

Telefon: +44 (0) 1536 647 537

- **Swiss Authorized Representative (CH-REP)**

Firma: MedEnvoy Switzerland

Adres: Gotthardstrasse 28, 6302 Zug, Switzerland

Telefon: +41 41 562 01 42



Firalis'i tercih ettiğiniz için teşekkür ederiz

Daha fazla bilgi, MSDS (Malzeme Güvenlik Bilgi Formu) veya

diğer diller, Talimat sorularınız için lütfen bize yazın:

contact@firalis.com