



A Sysmex Group Company



Kullanım Talimatları (IFU)

REF: CE-LPH 013-S / CE-LPH 013

MLL (KMT2A) Breakapart Probe



YALNIZCA PROFESYONEL KULLANIM İÇİNDİR



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

Kullanım Amacı

CytoCell® MLL (KMT2A) Breakapart Probe, doğrulanmış veya şüpheli akut miyeloid lösemi (AML), miyelodisplastik sendromlar (MDS) veya akut lenfoblastik lösemili (ALL) hastalardan alınan, Carnoy çözeltisinde (3:1 metanol/asetik asit) sabitlenmiş ve hematolojik olarak üretilmiş hücre süspansiyonlarında kromozom 11 üzerindeki 11q23.3 bölgesinde kromozomal yeniden düzenlemeleri tespit etmek için kullanılan, kalitatif, otomatik olmayan bir floresans *yerinde* hibridizasyon (FISH) testidir.

Kullanım Endikasyonları

Bu cihaz, onaylanmış tanısal ve klinik bakım yollarında, MLL (KMT2A) yeniden düzenleme durumu bilgisinin klinik yönetim için önemli olacağı, diğer klinik ve histopatolojik testlere ek olarak tasarlanmıştır.

Sınırlamalar

Bu cihaz, MLL (KMT2A) genini içeren bu prob setindeki kırmızı ve yeşil klonlarla bağlanmış bölgedeki kırılma noktalarının yeniden düzenlemelerini tespit etmek için tasarlanmıştır. Bu bölge dışındaki kırılma noktaları ya da tümüyle bu bölge dahilinde olan çeşitli yeniden düzenlemeler bu cihazla tespit edilemeyecebilir.

Bu cihaz şunlar için kullanılmaz: bağımsız tanılama, birlikte tanılama, prenatal test, popülasyon bazlı tarama, hasta başında test ya da kendi kendine test.

Bu cihaz, kullanım amacında belirtilenler dışındaki numune tipleri, hastalık tipleri ya da amaçlar için doğrulanmamıştır.

Tanılama amaçlı diğer laboratuvar testlerine yardımcı olması için kullanılmalıdır. Yalnızca FISH sonuçlarına dayanarak tedavi başlatılmamalıdır.

FISH sonuçlarının raporlanması ve yorumlanması, uygun vasıflara sahip personel tarafından yapılmalı, profesyonel uygulama standartlarıyla tutarlı olmalıdır ve ilgili diğer test sonuçları, klinik ve tanılama bilgilerini de göz önünde bulundurulmalıdır.

Bu cihaz yalnızca laboratuvar profesyonel kullanım içindir. Protokole bağlı kalınmaması performansı etkileyebilir ve yanlış pozitif/negatif sonuçlara neden olabilir.

Test Prensipleri

Floresans *yerinde* hibridizasyonu (FISH), DNA dizilimlerinin metafaz kromozomlar üzerinde ya da sabit sitogenetik numunelerden alınan interfaz çekirdeklerde tespit edilmesine yardımcı olan bir tekniktir. Bu teknik, tüm kromozomları ya da tekli özgün dizilimleri melezleştiren DNA problemleri kullanır ve G bantlı sitogenetik analizin güçlü bir yardımcıdır. Bu teknik, prenatal, hematolojik ve solid tümör kromozomal analizlerde temel bir araştırma aracı olarak kullanılabilir. Fiksasyon ve denatürasyonun ardından, hedef DNA komplementer bir dizilime sahip, benzer bir denatüre, floresan etiketli DNA probuna tavlınmaya hazır hale gelir. Hibridizasyonu takiben, bağırsız ve belirsiz bağılı DNA probu kaldırılır ve DNA vizüalizasyon için karşıt boyayla boyanır. Floresan mikroskop böylece hedef materyal üzerindeki melezleştirilmiş probun görüntülenmesini yapabilir.

Prob Bilgisi

11q23.3'teki KMT2A (lisin metiltransferaz 2A) geni genellikle, DNA topoizomerez II inhibitörleriyle yapılan tedavinin ardından akut lösemilerde, özellikle bebeklerde görülen lösemide ve ikincil lösemide yeniden düzenlenir¹.

KMT2A geni, drozofila tritoraks geniyle üst düzey bir homolojiye sahiptir ve transkripsiyonun epigenetik düzenleyicisi olarak işlev gören bir histon metil transferaz için kodlama yapar. KMT2A translokasyonları, KMT2A'nın amino-terminal kısmının füzyon ortağı geninin karboksi-terminal kısmına kaynaşmış olduğu kimerik proteinin üretilmesine neden olur. İşlevsel protein, embriyonik gelişme ve hematopoezde kritik bir rol oynar^{1,2,3,4}.

KMT2A yeniden düzenlemeleri, akut lenfoblastik lösemili (ALL) bebeklerin yaklaşık %80'inde ve pediatrik ve yetişkin ALL'lerin %5-10'unda tespit edilebilir^{3,4}. Ayrıca, bebek akut miyeloid lösemisinin (AML) %60'ında ve yenilerin %3'ü ile tedaviye bağlı yetişkin AML vakalarının %10'unda bulunabilir^{3,5}. Bugüne kadar, en yaygın yer translokasyonlar MLL::AFF1; t(4;11)(q21;q23.3), MLL::MLL T4; t(6;11)(q27;q23.3), MLL::MLL T3; t(9;11) (p22;q23.3) ve MLL::MLL T1; t(11;19)(q23.3;p13.3) olacak şekilde 70'ten fazla ortak tespit edilmiştir¹.

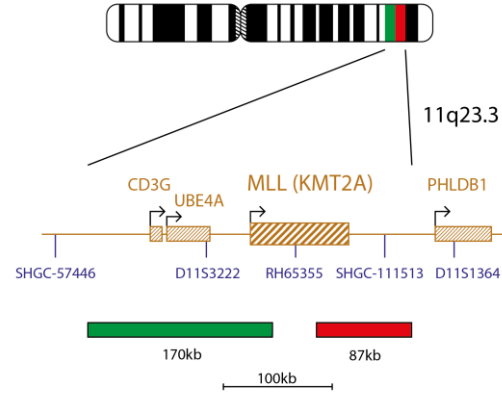
Geçmişte akut lösemideki KMT2A yeniden düzenlemeleri daha kötü sonuçlar veriyordu. Ancak son zamanlarda yapılan çalışmalar, prognozün füzyon ortağına fazlasıyla bağlı olduğunu ve çocuklar ile yetişkinler arasında farklılık gösterebileceğini ortaya koymuştur¹.

Prob Spesifikasyonu

MLL, 11q23.3, Kırmızı

MLL, 11q23.3, Yeşil

CMP-H036 v006.00



MLL ürünü, SHGC-111513 işaretçisi dahil olmak üzere MLL (KMT2A) genine telomerik bir bölgeyi kapsayan, kırmızı etiketli bir 87kb probdan ve CD3G ve UBE4A genlerini kapsayan MLL genine sentromerik bir 170kb bölgeyi kapsayan yeşil bir probdan oluşur.

Tedarik Edilen Materyaller

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

Problar, hibridizasyon çözeltisine (<%65 formamit; <20 mg dekstran sülfat; <%10 20 kat salin-sodyum sitrat (SSC)) karıştırılmış olarak tedarik edilir ve kullanıma hazırdır.

Karşıt boya: Viyal başına 150 µl (15 test).

Karşıt boya, DAPI Antifade ES'dir (gliserol bazlı gömme ortamı içinde 0,125 µg/ml DAPI (4,6-diamidino-2-fenilindol)).

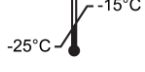
Uyarılar ve Tedbirler

1. Yalnızca *in vitro* tanılama amaçlıdır. Yalnızca laboratuvar profesyonel kullanım içindir.
2. Prob karışımları bir teratojen olan formamit içermektedir; buharı solumayın ya da cildinize temas ettirmeyin. Kullanırken özen gösterin; eldiven ve laboratuvar önlüğü giyin.
3. DAPI'yı kullanırken özen gösterin; eldiven ve laboratuvar önlüğü giyin.
4. Viyaller zarar görmüş ya da viyal içerikleri bir şekilde bozulmuşsa bunları kullanmayın.
5. Bu ürünü güvenli şekilde imha etmenin yolunu bulmak için Güvenlik Veri Sayfasındaki önerilerle birlikte bulunduğunuz konumdaki yerel imha yetkilerini izleyin. Bu zarar görmüş test kiti içerikleri için de geçerlidir.
6. Kullanılmış tüm reaktifler ve diğer tüm kontamine ve tek kullanımlık materyalleri, enfeksiyöz ya da enfeksiyon potansiyeli olan atık prosedürlerini izleyerek imha edin. Katı ve sıvı atıkları, yapısı ve tehlike derecesine göre kullanmak ve bunları geçerli yetkilerle uyarınca işlemek ve imha etmek (ya da işletmek ve imha ettirmek) laboratuvarın sorumluluğudur.
7. Operatörler, kırmızı, mavi ve yeşil renkleri ayırt edebiliyor olmalıdır.
8. Belirtilen protokol ve reaktiflere bağlı kalınmaması performansı etkileyebilir ve yanlış pozitif/negatif sonuçlara neden olabilir.
9. Bir prob diğer problemlerle seyreltilmemelidir ya da karıştırılmamalıdır.
10. Protokolün ön denatürasyon aşaması sırasında 10 µl prob kullanılmaması, performans etkileyebilir ve yanlış pozitif/negatif sonuçlara neden olabilir.
11. Tüm ürünler kullanılmadan önce ederkulanmalıdır.
12. İç kontroller, numuneleri test ederken etkilenmeyen hücre popülasyonları kullanılarak yapılmalıdır.

Sıcaklık Açıklamaları

- 20 °C / Donmuş / Dondurucuda: -25 °C ila -15 °C
- 37 °C: +37 °C $\pm$ 1 °C
- 72 °C: +72 °C $\pm$ 1 °C
- 75 °C: +75 °C $\pm$ 1 °C
- Oda Sıcaklığı (RT): +15 °C ila +25 °C

Muhafaza ve Kullanım

 Bu kit, kit etiketinde belirtilen son kullanma tarihine kadar -25 °C ile -15 °C arasında bir dondurucuda muhafaza edilmelidir. Prob ve karşıt boya viyalleri karanlık bir ortamda muhafaza edilmelidir.



FISH probu, DAPI Antifade ES karşıt boyası ve Hibridizasyon Çözeltisi, normal kullanım sırasında uygulanan dondurma-çözme döngülerinde stabil kalır (burada bir döngü viyalin dondurucudan çıkarılması ve dondurucuya yerleştirilmesinden oluşur) - 50 µl (5 test) viyal FISH probu için 5 döngü, 100 µl (10 test) viyal FISH probu için 10 döngü ve 150 µl (15 test) viyal karşıt boya için 15 döngü. Işığa maruz kalma en aza indirilmeli ve mümkün oldukça önlenmelidir. Bileşenleri, verilen ışık geçirmez kapta muhafaza edin. Etiketle belirtilenler dışındaki koşullarda kullanılan ve muhafaza edilen bileşenler, gerektiği gibi çalışmayabilir ve test sonuçlarını olumsuz etkileyebilir. Işığa ve sıcaklık değişimlerine maruz kalınmasının önüne geçmek için her türlü çaba sarf edilmelidir.

Gerekli Olan Fakat Tedarik Edilmeyen Teçhizat ve Materyaller

Kalibre edilmiş teçhizat kullanılmalıdır:

- Isıtmalı tabla (sert bir tabla ve 80 °C'ye kadar doğru sıcaklık kontrolü)
- Kalibre edilmiş değişken hacimli mikropipet ve uç aralığı 1 µl-200 µl
- Doğru sıcaklık kontrolünde (37 °C ve 72 °C) su banyosu
- Mikrosantrifüj tüpler (0,5 ml)
- Floresan mikroskop (Lütfen Floresan Mikroskop Önerisi bölümüne bakınız)
- Faz kontrast mikroskopu
- Temiz plastik, seramik ya da ısıya dayanıklı cam Coplin kavanozlar
- Forseps
- Kalibre edilmiş pH ölçüm cihazı (ya da pH 6,5-8,0 ölçebilen pH indikatör şeritler)
- Nemli kap
- Floresan dereceli mikroskop lensi immersiyon yağı
- Tezgah üstü santrifüj
- Mikroskop lamaları
- 24x24 mm lameller
- Zamanlayıcı
- 37 °C inkübatör
- Kauçuk çözelti yapıştırıcısı
- Vorteks mikser
- Dereceli silindirler
- Manyetik karıştırıcı
- Kalibre edilmiş termometre

Tedarik Edilmeyen Tercihe Bağlı Teçhizat

- Sitogenetik kurutma kabini

Gerekli Olan Fakat Tedarik Edilmeyen Reaktifler

- 20 kat salin-sodyum sitrat (SSC) Çözeltisi
- %100 Etanol
- Tween-20
- 1 M Sodyum hidroksit (NaOH)
- 1 M Hidroklorik asit (HCl)
- Artırılmış su

Floresan Mikroskop Önerisi

Optimal vizüalizasyon için, 100 vat cıva buharlı lamba ya da muadili bir lamba ve yağ immersiyonu planı apokromat objektiflerini (60/63 kat ya da 100 kat) kullanın. Bu prob setinde kullanılan florofor şu dalga boylarını eksite eder ve yayar:

Florofor	Eksitasyon _{max} [nm]	Emisyon _{max} [nm]
Yeşil	495	521
Kırmızı	596	615

Mikroskoba yukarıda listelenen ses dalgalarını kapsayan uygun eksitasyon ve emisyon filtrelerinin takıldığından emin olun. Yeşil ve kırmızı floroforların optimal eş zamanlı vizüalizasyonu için, üçlü DAPI/yeşil spektrum/kırmızı spektrum bant geçirici filtre ya da ikili yeşil/kırmızı spektrum bant geçirici filtre kullanın.

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

Numune Hazırlama

Bu kit, laboratuvar ya da kurumsal kılavuzlara göre hazırlanmış olan, doğrulanmış veya şüpheli akut miyeloid lösemi (AML), miyelodisplastik sendromlar (MDS) veya akut lenfoblastik lösemi (ALL) hastalardan alınan, Carnoy çözeltisi (3:1 metanol/asetik asit) 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 içermektedir⁶.

Çözelti Hazırlama

Etanol Çözeltileri

Takip eden oranları kullanarak %100 etanolü artırılmış su ile seyreltin ve iyice karıştırın:

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

2xSSC Çözeltisi

1 birim 20xSSC Çözeltiyi 9 birim artırılmış suyla seyreltin ve iyice karıştırın. pH'ı kontrol edin ve NaOH ya da HCl kullanarak pH 7,0 olarak ayarlayın. Çözeltiyi oda sıcaklığında, hava geçirmez bir kapta, 4 haftaya kadar muhafaza edin.

0,4xSSC Çözeltisi

1 birim 20xSSC Çözeltiyi 49 birim artırılmış suyla seyreltin ve iyice karıştırın. pH'ı kontrol edin ve NaOH ya da HCl kullanarak pH 7,0 olarak ayarlayın. Çözeltiyi oda sıcaklığında, hava geçirmez bir kapta, 4 haftaya kadar muhafaza edin.

2xSSC, %0,05 Tween-20 Çözeltisi

1 birim 20xSSC Çözeltiyi 9 birim artırılmış suyla seyreltin. Her 10 ml başına 5 µl Tween-20 ekleyin ve iyice karıştırın. pH'ı kontrol edin ve NaOH ya da HCl kullanarak pH 7,0 olarak ayarlayın. Çözeltiyi oda sıcaklığında, hava geçirmez bir kapta, 4 haftaya kadar muhafaza edin.

FISH Protokolü

(Not: Probu ve karşıt boyanın laboratuvar ışıklarına maruz kalmamasına her zaman dikkat edin).

Lam Hazırlama

- Hücre numunesini cam mikroskop lamı üzerine yerleştirin. Kurumaya izin verin. (Tercihe bağlı, sitogenetik kurutma kabini kullanılıyorsa: 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).
- Lamı 2 dakika boyunca, oda sıcaklığında ve ajitasyon olmadan 2xSSC 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 ısınmasını sağlayın. Kullanmadan önce, tüpleri kısa süre santrifüj edin.
- Prob çözeltisinin bir pipetle karıştırıldığından ve çözeltinin eşit olarak dağıldığından emin olun.
- Test başına probdan 10 µl 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) ısıtmalı tabla üzerine koyun.
- Prob karışımından 10 µl alıp hücre numunesi üzerine damlatın ve dikkatlice bir lamel uygulayın. Kauçuk çözelti yapıştırıcısıyla kapatın ve yapıştırıcının tamamen kurumasına izin verin.

Denatürasyon

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

Hibridizasyon

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

Hibridizasyon Sonrası Yıkamalar

- DAPI'yi dondurucudan çıkarın ve oda sıcaklığında ısınmasını sağlayın.
- Lameli ve yapıştırıcının tüm izlerini dikkatlice kaldırın.
- Lamı 2 dakika boyunca, 72 °C'de (+/- 1 °C) ve ajitasyon olmadan 0,4xSSC (pH 7,0) içine daldırın.
- Lamı kurutun ve 30 saniye boyunca, oda sıcaklığında (pH 7,0) ve ajitasyon olmadan 2xSSC, %0,05 Tween-20 içine daldırın.
- Lamı kurutun ve her bir numuneye 10 µl DAPI renk solması önleyici karışımı uygulayın.
- Bir lamel ile üstünü kapatın, baloncukları giderin ve 10 dakika boyunca karanlıkta bekleterek rengin belirginleşmesini sağlayın.
- Floresan mikroskop kullanarak izleyin (bakınız **Floresan Mikroskop Önerisi**).

Prosedürel Öneriler

- Lamların ısıtılması ya da yıpranması, sinyal floresanını düşürebilir.
- Cytocell Ltd.'nin tedarik ettiği ya da önerdiği reaktifler haricinde reaktifler kullanmak, hibridizasyon 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 konsantrasyonları, pH ve sıcaklıklar önemlidir.
- Tamamlanmamış denatürasyon sinyal yokluğuna, aşırı denatürasyon ise belirsiz bağlanmaya neden olabilir.
- Aşırı hibridizasyon ilave ya da beklenmeyen sinyallerin ortaya çıkmasıyla sonuçlanabilir.
- Kullanıcılar, testi tanılama amaçlı olarak kullanmadan önce, protokolü 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 zayıf - 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 melezleştirilmemişse
- 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

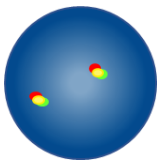
Analiz Kılavuzları

- 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 lamine sol tarafından, ikinci analist lamine 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
- Sinyaller 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
- İki renkli ayırma probunu analiz ederken, aralarında 2 sinyal genişliğinden daha dar olan bir boşluk bulunan kırmızı ve yeşil sinyaller varsa bunlar yeniden düzenlenmemiş/kaynaştırılmamış sinyal olarak sayılırlar
- Hücresinin analiz edilebilir olup olmadığından emin değilseniz, analiz yapmayın

Analiz Kılavuzları	
	Saymanın - çekirdeklerin sınırları belirlenemeyecek kadar birbirine çok yakın
	Üst üste binmiş çekirdekleri saymanın - her iki çekirdeğin tüm alanları görünmez
	İki füzyon sinyali olarak sayın - kırmızı sinyal ile yeşil sinyal arasındaki boşluk iki sinyal genişliğinden azdır
	İki füzyon sinyali olarak sayın - bir füzyon sinyali dağıntıdır

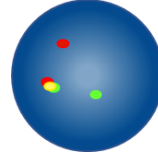
Beklenen Sonuçlar

Beklenen Normal Sinyal Örüntüsü



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

Beklenen Anormal Sinyal Örüntüsü



Dengeli bir MLL (KMT2A) yeniden düzenlemesi olan bir hücrede, beklenen sinyal örüntüsü bir kırmızı, bir yeşil ve bir kırmızı/yeşil füzyonu (1F1K1Y) olacaktır.

Anöploid/dengesiz numunelerde diğer sinyal örüntüleri mümkündür.

Bilinen İlgili Etkileşimler / Etkileşen Maddeler

Bilinen ilgili etkileşim / etkileşen madde yok.

Bilinen Çapraz Reaktivite

Bilinen çapraz reaktivite yok.

Olumsuz Durum Raporlama

Avrupa Birliği ve benzer düzenleyici rejimin (*In vitro* Tıbbi Tanılama Cihazları hakkında (EU) 2017/746 Yönetmeliği) olduğu ülkelerde bulunan hastalar/kullanıcılar/üçüncü taraflar için; bu cihazın kullanımı sırasında ya da sonucunda olumsuz bir durum meydana gelirse, lütfen bunu Üreticiye ve Yetkili Ulusal Makama rapor edin.

Diğer ülkelerdeki olumsuz durumlar için, lütfen bunu Üreticiye ve Yetkili Ulusal Makama rapor edin.

Üretici vijilans irtibatı: vigilance@ogt.com

AB Yetkili Ulusal Makamları için, vijilans temas noktalarının bir listesini şurada bulabilirsiniz:

https://health.ec.europa.eu/medical-devices-sector/new-regulations/contacts_en

Spesifik Performans Özellikleri

Analitik Belirlilik

Analitik belirlilik, doğru lokusa melezleştirilmiş ve başka bir konuma melezleştirilmemiş sinyallerin yüzdesidir. Analitik belirlilik, toplam 200 hedef lokusun analiziyle tespit edildi. 5 numune bulunan 20 metafaz hücresinin her birinde 2 kromozomal lokus analiz edildi ve 200 veri noktası elde edildi. Analitik belirlilik, doğru lokusa melezleştirilmiş FISH sinyalleri sayısının, toplam melezleştirilmiş FISH sinyallerine bölünmesiyle hesaplandı.

Kit içerisindeki her probun analitik belirliliği, doğru lokusa melezleştirilmiş metafaz kromozomu FISH sinyallerinin toplam melezleştirilmiş metafaz kromozomu FISH sinyali sayısına bölünmesiyle hesaplandı, bulunan sonuç 100 ile çarpıldı, yüzde olarak ifade edildi ve %95 güven aralığında verildi.

Tablo 1. MLL (KMT2A) Breakapart Probe için Analitik Belirlilik

Prob	Hedef	Melezleştirilmiş metafaz kromozomlarının sayısı	Doğru melezleştirilmiş lokus sayısı	Analitik Belirlilik (%)	%95 Güven Aralığı (%)
MLL Distal, Kırmızı	11q23.3	200	200	100	98,12-100
MLL Proximal, Yeşil	11q23.3	200	200	100	98,12-100

Analitik Hassasiyet

Analitik hassasiyet, beklenen normal sinyal örüntüsü olan, skorlanabilir interfaz hücrelerinin yüzdesidir. 25 Carnoy çözeltisinde sabitlenmiş kemik iliği ve karyotipik olarak normal hücre süspansiyonunun her biri için en az 200 interfaz hücresi analiz edildi ve bunun sonucunda her numune tipi için minimum 5000 puanlanan çekirdek elde edildi. Hassasiyet verileri, beklenen normal bir sinyal düzenini gösteren hücrelerin yüzdesine dayanarak analiz edildi ve %95 güven aralığında bir yüzde olarak ifade edildi.

Tablo 2. MLL (KMT2A) Breakapart Probe için Analitik Hassasiyet

Beklenen sinyal örüntülü hücrelerin sayısı	Skorlanabilir sinyalli hücrelerin toplam sayısı	Analitik Hassasiyet (%)	%95 Güven aralığı (%)
4965	5000	99,3	99,08-99,52

Normal Kesim Değerleri Karakterizasyonu

FISH problemleriyle birlikte normal eşik değeri, bir numunenin bu sinyal örüntüsünün normal kabul edileceği spesifik anormal sinyal örüntüsü, skorlanabilir interfaz hücresi maksimum yüzdesidir.

Proben tespit etmesi amaçlanan yeniden düzenleme için negatif numuneler ve beta ters işlevi kullanılarak normal eşik değeri belirlenmiştir. Her bir numune için 100 interfaz çekirdeğin sinyal örüntüleri, toplamda her bir numune için 200 olarak iki bağımsız analist tarafından kaydedilmiştir.

Eşik değeri, MS Excel'deki β -ters (BETAINV) fonksiyonu kullanılarak belirlendi. Normal bir hasta numunesindeki binom dağılımının tek taraflı %95 güven aralığının bir üst sınırını kullanarak yanlış pozitif sinyal örüntüsü gösteren interfaz hücrelerinin yüzdesi olarak hesaplandı.

Tablo 3. MLL (KMT2A) Breakapart Probe için Normal Eşik Değerleri
Karakterizasyonu

Anormal sinyal örüntüsü	Eşik değeri oluşturmak için analiz edilen numune sayısı	Her bir numune için değerlendirilen çekirdek sayısı	Maks. yanlış pozitif sinyal örüntüsü sayısı	Normal eşik değeri (%)
1K1Y1F	1600	200	3	3,8

Laboratuvarlar eşik değerlerini kendi verilerini kullanarak teyit etmelidir.^{7,8}

Yeniden Üretilebilirlik

Şunları belirlemek üzere yeniden üretilebilirlik çalışmaları yapılmıştır:

- 3 bölge Günlük içi yeniden üretilebilirlik (numuneden numuneye)
- 3 bölge Günlükler arası yeniden üretilebilirlik (günden güne)
- 3 bölge Bölgeler arası yeniden üretilebilirlik (bölgeden bölgeye)
- Tek bölge Lotlar arası yeniden üretilebilirlik (lotta lota)

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

Her üç bölge de aynı prob lotunu kullanarak günlük içi, günlükler arası ve bölgeler arası testler gerçekleştirildi. Ayrıca bölgelerden birinde üç farklı prob lotu kullanılarak lotlar arası yeniden üretilebilirlik de test edildi. Yeniden üretilebilirlik, her test sırasında incelenen değişkenler arasındaki uyum kullanılarak hesaplandı.

Tablo 4. MLL (KMT2A) Breakapart Probe için Yeniden Üretilebilirlik

Yeniden üretilebilirlik çalışması	Numune	Uyum (%)
Günlük içi/Günlükler arası/Bölgeler arası	%90 Uyum Negatif Sınıf	%100
	%95 Uyum Yüksek Pozitif Sınıf	%100
Lotlar Arası	%90 Uyum Negatif Sınıf	%100
	%95 Uyum Yüksek Pozitif Sınıf	%100

Klinik Performans

Ürünün, amaçlanan yeniden düzenlemeleri tespit etmesini sağlamak amacıyla, harici test bölgelerinde yapılan üç retrospektif çalışma sırasında klinik performans sağlandı. Çalışmalar, tüm bölgelerde on sekiz (18) pozitif ve dört yüz yetmiş (470) negatif örnekle toplamda dört yüz seksen sekiz (488) olan bir numune boyutuna sahip olmuştur. Her örneğin pozitiflik durumu, incelenen problemlerle aynı anormallikleri tespit eden, rakip tedarikçinin pazarladığı karşılaştırmalı bir ticari prob kullanılarak ya da G-bantlı karyotip karşılaştırmasıyla doğrulanmıştır.

Bu testlerin sonuçları, tek boyutlu bir yaklaşım kullanarak pozitif sinyaller için klinik hassasiyet, klinik belirlilik ve yanlış pozitif oran (FPR) değerleri sağlamak amacıyla analiz edildi.

Tablo 5. MLL (KMT2A) Breakapart Probe için Klinik Performans

Değişken	Sonuç
Klinik Hassasiyet (gerçek pozitif oran, TPR)	%99,93
Klinik Belirlilik (gerçek negatif oran, TNR)	%99,97
Yanlış Pozitif oran (FPR) = 1 – Belirlilik	%0,03

Güvenlilik ve Performans Kısa Özeti (SSP)

SSP, Temel UDI-DI'ye bağlı olduğu tıbbi cihazlar hakkında Avrupa veritabanı (Eudamed) yoluyla halka açık olacaktır.

Eudamed URL'si: <https://ec.europa.eu/tools/eudamed>

Temel UDI-DI: 50558449LPH013J8

Eudamed tam olarak çalışmıyorsa, SSP@ogt.com adresine e-posta göndererek talep edilmesi üzerine SSP halka açık olacaktır.

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. Tamai, Inokuchi, J Clin Exp Hematopathol 2010;50(2):91-98
2. Wright, Vaughan, Critical Reviews in Oncology/Hematology 2014;91(3):283-291
3. Van der Burg vd., Leukemia 2004;18(5):895-908
4. Tomizawa, Pediatr Int 2015;57(8):811-819
5. Grossman vd., Leukemia 28 Mart 2013; doi10.1038/leu.2013.90
6. Arsham, MS., Barch, MJ. Ve Lawce HJ. (editörler) (2017) *The AGT Cytogenetics Laboratory Manual*. New Jersey: John Wiley & Sons Inc.
7. Mascarello JT, Hirsch B, Kearney HM, vd. 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.

Semboller Sözlüğü

EN ISO 15223-1:2021 - "Tıbbi cihazlar - Üretici tarafından sağlanacak bilgilerde kullanılacak semboller - Bölüm 1: Genel gereklilikler" (© International Organization for Standardization)		
Sembol	Başlık	Referans Numarası/Numaraları
	tr: Üretici	5.1.1
	tr: Avrupa Topluluğu'nda/Avrupa Birliği'nde yetkili temsilci	5.1.2
	tr: Son kullanım tarihi	5.1.4
	tr: Parti kodu	5.1.5
	tr: Katalog numarası	5.1.6
	tr: Güneş ışığından koruyun	5.3.2
	tr: Sıcaklık sınırı	5.3.7
	tr: Kullanım talimatlarına bakın	5.4.3
	tr: Elektronik kullanım talimatlarına bakın	5.4.3
	tr: Dikkat	5.4.4
	tr: <i>In vitro</i> tıbbi tanılama cihazı	5.5.1
	tr: $<n>$ test için yeterlidir	5.5.5
	tr: Benzersiz Cihaz Tanımlayıcısı	5.7.10
IVD reaktifleri ve bileşenleri için EDMA sembolleri, Ekim 2009 revizyonu		
Sembol	Başlık	Referans Numarası/Numaraları
	tr: İçindekiler (veya içerikler)	Uygulanamaz

Patentler ve Markalar

CytoCell, CytoCell Limited'in tescilli ticari markasıdır.

**CytoCell Limited**

Oxford Gene Technology
418 Cambridge Science Park
Milton Road
CAMBRIDGE
CB4 0PZ
BİRLEŞİK KRALLIK

Tel: +44 (0)1223 294048

F: +44 (0)1223 294986

E-posta: probes@cytoCell.com

Web sitesi: www.oqt.com

**Sysmex Europe SE**

Bornbarch 1
22848 Norderstedt
ALMANYA

Tel: +49 40 527260

Web sitesi: www.sysmex-europe.com

IFU Sürüm Geçmişi

V001.00 2023-01-11: (EU) 2017/746 Yönetmeliği için yeni IFU

V002 2025-08-29: UKCA işaretinin kaldırılması.